Aus dem Institut für
experimentelle Therapie „Emil von Behring", Marburg/Lahn
(Leiter: Prof. Dr. H. Schmidt)

Experimentelle Studien zur Frage nach der Art der im Diphtherie-Heilserum wirksamen Antikörper mit besonderer Berücksichtigung der Rolle des Komplements bei der experimentellen Diphtherieerkrankung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

Der Hohen Medizinischen Fakultät der Universität Marburg
vorgelegt von

Wolfgang Pernice
approb. Arzt aus Suhl / Thüringen

Marburg 1933

Aus dem Institut für
experimentelle Therapie „Emil von Behring", Marburg/Lahn
(Leiter: Prof. Dr. H. Schmidt)

Experimentelle Studien zur Frage nach der Art der im Diphtherie-Heilserum wirksamen Antikörper mit besonderer Berücksichtigung der Rolle des Komplements bei der experimentellen Diphtherieerkrankung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

Der Hohen Medizinischen Fakultät der Universität Marburg
vorgelegt von

Wolfgang Pernice
approb. Arzt aus Suhl / Thüringen

Marburg 1933

R. UNIV
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Angenommen von der
Medizinischen Fakultät am 8. III. 1933.

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät.

Referent: Prof. Dr. Schmidt.
Korreferent: Prof. Dr. Pfannenstiel.

Inhaltsübersicht.

Teil I.

Seite

A) Der Einfluß der malignen Diphtherie auf die Diphtherieforschung . . } 5—8
Das häufige Versagen des Diphtherie-Heilserums . . . . . }
Die Gründe für das Versagen . . . . . }
Der antibakterielle Faktor bei der Diphtherie und ihrer Behandlung . }

B I) Die Wirkung des Normalserums in klinischer und experimenteller Betrachtung . . . . . 9—22
Klinische Ergebnisse mit Normalserum 9
Experimentelle Ergebnisse mit Normalserum 11
Der Einfluß des Normalserums auf die Schickreaktion 15
Die Wirkungsweise des Normalserums, erklärt durch normale Antikörper . 18
durch unspezifische Wirkung 20
Die Wirkung anderer Eiweißkörper 20

Zusammenfassung 21

II) Der Heilwert antitoxischer Sera (Antitoxin und Serumanteil) in Beziehung zum Antitoxingehalt 22
Bedeutung des Serumanteils 22
Nicht-antitoxische Wirkungen des antitoxischen Heilserums 25

III) Eigenschaften und Wirkungen antibakterieller Diphtheriesera 29

Begründung der Untersuchungen:
1. Bedeutung der Virulenz 30
2. Bedeutung der Bakteriämie 31

Herstellung und Heilwert antitox.-antibakterieller Sera 32
Herstellung, Eigenschaften und Wirkungen antibakterieller Sera:
Frühere Ergebnisse 32
Eigene Untersuchungen 37

Herstellungsweise der Immunsera 38

Eigenschaften:

Agglutination 39
Antitoxingehalt 41
Komplementbindende Antikörper 42
Präzipitine 45
Bakteriolytische Antikörper 46
Heilwert der Kaninchen-Immunsera
bei der Infektion mit Diphtheriebazillen 48
bei der Intoxikation 50

Zusammenfassung 52

Teil II.

Experimentelle Studien über die Rolle des Komplementes bei der experimentellen Diphtherieerkrankung 62

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554407_0019

Aus dem Institut für experimentelle Therapie
„Emil von Behring", Marburg/Lahn (Leiter: Prof. Dr. H. Schmidt)

I.

Experimentelle Studien zur Frage nach der Art der im Diphtherie-Heilserum wirksamen Antikörper.

Das gehäufte Auftreten von schwerer, maligner Diphtherie in den Jahren seit 1925 hat einen weitgehenden Einfluß auf die Diphtherieforschung und die Anschauungen über die Immunitätsverhältnisse bei der Diphtherie ausgeübt. Wenn schon das Ansteigen der Erkrankungszahlen und der Krankheitsverlauf für Viele, die von der Schutz- und Heilkraft des antitoxischen Heilserums fest überzeugt waren, eine Überraschung bedeuteten, so war es noch mehr der Umstand, daß ein großer Teil der schweren Diphtherieerkrankungen ausgesprochen schlecht auf die übliche Behandlung mit antitoxischem Heilserum ansprachen, ja, daß dieses oft auch bei frühzeitiger Anwendung von großen Dosen völlig wirkungslos blieb und die Patienten unter den schwersten toxischen Erscheinungen, die den Beschreibungen der Vorserumzeit entsprachen, nach kurzer Zeit zugrunde gingen. Diese Erfahrungen waren geeignet, die alte *Gottstein*'sche Anschauung von der Diphtheriewelle, die alle 25—30 Jahre ihren Höhepunkt erreichen und durch Heilserum nicht beeinflußt werden soll, zu bestätigen — eine Anschauung, die ebenso, wie sie heute als epidemiologische Tatsache hingestellt wird, vor 3 Jahrzehnten, als sie von einigen Forschern zur Erklärung der (statistisch nachgewiesenen) erstaunlichen Erfolge des Heilserums mit herangezogen wurde, die schärfste Ablehnung fand.

Außerdem aber bedeuteten diese schlechten Erfahrungen mit Heilserum bei der malignen Diphtherie insofern für die Diphtherieforschung einen neuen Antrieb, als nunmehr die Grund-

lagen der Immunitätsverhältnisse, der Serumtherapie und -prophylaxe einer gründlichen Revision unterzogen wurden. Hatte man doch nach den hervorragenden Forschungen *Emil von Behrings* und seiner Mitarbeiter das Diphtherieproblem in seiner Gesamtheit für weitgehend gelöst betrachtet und seine Bearbeitung lange Zeit nicht so betrieben, wie sie nun bei der Vielheit der neuen Probleme notwendig und grundsätzlich wichtig erschien.

Erklärungen für die Unwirksamkeit des Heilserums bei der schweren, malignen Diphtherie sind in den letzten Jahren in nicht geringer Zahl gegeben worden.

Der häufige Nachweis von Streptokokken im Blut und Rachen Diphtheriekranker hat zu der Annahme einer Mischinfektion geführt, bei der nicht nur das Zusammentreffen der verschiedenen pathogenen Bakterien für die stärkere Schädigung des Organismus verantwortlich gemacht wird, sondern bei der die Diphtheriebazillen durch die Streptokokken eine Virulenzsteigerung erfahren sollen, die experimentell nachgewiesen wurde. Daraus wurde gefolgert, daß bei einer solchen Mischinfektion das gegen das Diphtherietoxin allein eingestellte Heilserum nicht genügend wirksam ist. Es wurden deswegen außer dem Diphtherieserum Streptokokkensera injiziert oder Mischsera, wie z. B. das Symbioseserum, benutzt. Über den Wert dieser Behandlungsmethoden gehen die Meinungen sehr auseinander.

Von einer anderen Seite wird die Anschauung vertreten, daß die maligne Diphtherie durch besonders toxische Diphtheriebazillenstämme verursacht würde. Das Toxin dieser Stämme würde so schnell in großen Mengen an das Gewebe und die Körperzellen gebunden, daß auch die klinisch frühzeitige Seruminjektion immer zu spät käme, zumal die ersten klinischen Diphtheriesymptome schon Ausdruck einer Intoxikation, die Folge der Bindung des Toxins an die Körperzelle, sind.

Um dieser starken Toxizität und beschleunigten Giftbindung (Avidität) noch wirksam mit einem antitoxischen Serum entgegentreten zu können, wurde der Versuch gemacht, das Antitoxin durch eine bessere Durchtränkung des Gewebes und Beschleunigung der Flüssigkeitsbewegung mit Hilfe von Euphyllin und ähnlichen Stoffen auch noch an das im Gewebe verankerte Toxin heranzubringen und dieses dadurch unschädlich zu machen. In einigen Fällen scheint dieses Vorgehen Erfolg gehabt zu haben.

Wieder andere Forscher sind der Ansicht, daß die malignen, schwer beeinflußbaren Formen der Diphtherie durch Keime hervorgerufen werden, die wenig toxisch, dagegen aber hochvirulent sind, während neueste Arbeiten die Gründe für die maligne Diphtherie nicht in der Virulenz und Toxigenität der Erreger, sondern in konstitutionellen Momenten, in der individuellen Empfänglichkeit, suchen. Auch soll der Ernährungsfaktor bei den Diphtheriebazillen eine Wirkung auf die Giftbildung ausüben.

Diese Anschauungen können aber nur teilweise das Versagen des antitoxischen Heilserums erklären. Und auch die oft vertretene Meinung, daß das Heilserum deshalb schuld an dem Versagen sei, weil es mit alten Laboratoriumsstämmen hergestellt würde, ist in jüngster Zeit wohl genügend widerlegt worden. Qualitative Unterschiede in den Toxinen alter und frischer Stämme sind bisher nicht sicher festgestellt worden*), auch ist das im Körper gebildete Gift mit dem Bouillongift sicher identisch und beide Gifte durch Antitoxin neutralisierbar. Doch läßt die Verschiedenheit in den Auffassungen über die Entstehungsursache der malignen Diphtherie die Frage zu, ob das Diphtherietoxin, das bisher für das Krankheitsbild der Diphtherie verantwortlich gemacht wurde, für die Erklärung aller Krankheits- und Immunitätserscheinungen einzig und allein herangezogen werden kann, oder ob nicht vielmehr noch andere, vielleicht bakterielle Momente, in Betracht kommen. Für die letztere Auffassung könnten die Feststellungen sprechen, daß gegen Diphtherie immunisierte Kinder mit einer ausreichenden Antitoxinmenge im Blute an Diphtherie erkranken können; daß Menschen trotz negativen Antitoxinbefundes im Blute oft nicht erkranken, auch wenn sie Diphtheriebazillen beherbergen; daß unmittelbar nach der Heilung kein Antitoxin im Blut nachweisbar zu sein braucht und daß die Schickreaktion bei einem Teil von spontan geheilten Diphtheriepatienten weiter positiv bleibt.

Wohl können einige dieser Beobachtungen damit erklärt werden, daß das Antitoxin nicht frei im strömenden Blut kreist, sondern gewebsgebunden ist, und bei dem geringsten Anreiz durch Diphtheriebazillen sofort seine Wirkung entfaltet. Doch ist auch die Anschauung gerechtfertigt, daß das Antitoxin nicht den einzigen, gegen die Diphtherieerkrankung wirksamen Antikörper, sondern nur einen Faktor im Komplex der Diphtherieabwehr darstellt. Diese Vermutung, durch welche die zweifellos große Bedeutung des Antitoxins nicht abgestritten,

*) Die Literatur über die Möglichkeit der Typeneinteilung der Di.-Bazillen und über Verschiedenheit der Toxine findet man bei K. W. Clauberg, Kli. Wo. 1933, Nr. 25. Diese Fragen sind zur Zeit noch unentschieden und bedürfen weiterer experimenteller Bearbeitung.

vielleicht aber zu Gunsten anderer Faktoren eingeschränkt wird, ist nicht neu.

Schon *Roux* (1908) war der Meinung, daß die Diphtherie-Heilsera antibakterielle Schutzkörper enthalten müssen, um volle Heilwirkung zu entfalten, und seit seinen Veröffentlichungen sind immer wieder im Laufe der Zeit von einzelnen Autoren auf Grund von Beobachtungen und Überlegungen antibakterielle Diphtheriesera hergestellt und verwandt worden.

Während aber die Auffassung von der alleinigen Bedeutung des Antitoxins fast Allgemeingut geworden ist und dazu führte, die therapeutische Wirksamkeit zu überschätzen, wurden die anderen Ansichten kaum beachtet, und erst besondere Ereignisse, wie z. B. *Bingels* Heilergebnisse mit normalem Pferdeserum oder die anscheinende Wirkungslosigkeit des Antitoxins bei maligner Diphtherie in jüngster Zeit, führten zu eingehenderer Bearbeitung.

Wenn diese Arbeit zur Klärung dieser Fragen beitragen soll, so ist es notwendig, auf Grund der erschienenen Arbeiten und eigener experimenteller Untersuchungen auf die folgenden 4 Einzelfragen näher einzugehen:

1. Hat das normale antitoxinfreie Serum eine einwandfreie Wirkung auf die klinische und experimentelle Diphtherie und worauf ist sie zurückzuführen?

2. Wirken in Heilversuchen mit dem rein antitoxischen Heilserum, das durch Injektion von Toxin erhalten wird, noch andere Serumbestandteile, die von dem Antitoxin verschieden sind, nachweisbar mit?

3. Ist bei den Heilseren, die durch Injektion lebender Diphtheriebazillen erhalten wurden, die also Antitoxin und vielleicht antibakterielle Immunstoffe enthalten, eine stärkere Wirkung festzustellen als bei rein antitoxischen Seren mit dem gleichen Antitoxingehalt?

4. Haben Immunsera, die durch Injektion von abgetöteten, von Toxin möglichst befreiten Diphtheriebazillen hergestellt worden sind, also kein Antitoxin, dagegen reichlich antibakterielle Antikörper enthalten, eine Heilwirkung auf die experimentelle Diphtherieerkrankung?

I. Hat das normale antitoxinfreie Serum eine einwandfreie Wirkung auf die klinische und experimentelle Diphtherie und worauf ist sie zurückzuführen?

Die Frage über die Heilwirkung des Normalserums bei der Diphtherie ist durch die Veröffentlichungen *Bingels im Jahre* 1918 in ihrer ganzen Bedeutung aufgerollt worden, und seitdem ist diese Frage immer wieder in dem Schrifttum der klinischen und experimentellen Forschung erörtert worden. Wurde doch hier auf Grund eingehender klinischer Untersuchungen die Bedeutung des Antitoxins in Zweifel gezogen und die Wirkung des antitoxinfreien Pferdeserums dem Heilwert des antitoxischen Heilserums gleichgesetzt. *Bingel* war wohl der erste, der Untersuchungen mit Normalserum an Diphtheriekranken in großem Maße durchführte, aber schon lange vor ihm sind einige Angaben über den Heilwert des normalen Pferdeserums gemacht worden.

So hat *Bertin* schon 1895 Heilversuche mit gewöhnlichem Pferdeserum angestellt und bei Anwendung solchen Serums ebenso schnelle Abstoßung der Membran und Euphorie gesehen wie bei antitoxischem Pferdeserum. Seine Mitteilung hat aber keine weitere Beachtung gefunden.

Auch die Erfahrungen, die *Lorey* während der schweren Diphtherie-Epidemie in Hamburg (1912) machte, lassen sich in diesem Sinne verwerten. *Lorey* wandte damals das Heilserum und normales Pferdeserum lokal bei der Rachendiphtherie an und fand bei diesem Vorgehen, daß die Membranen auffallend rasch abgestoßen wurden und die Schleimhautdiphtherie der Nase und der Conjunktiven rasch gebessert und geheilt wurde. Mit beiden Arten von Serum hatte er dieselben guten Erfolge.

Auf Grund dieser Veröffentlichungen hielt *Rolly* (1916) neue Statistiken für notwendig und forderte, daß ein Drittel der Fälle mit antitoxischem Pferdeserum, ein Drittel mit gewöhnlichem, normalem Pferdeserum und das letzte Drittel überhaupt nicht mit Serum behandelt werden sollte. Diesem Ansinnen stehen schwere ethische Bedenken gegenüber, und die große Verantwortung, die der Arzt bei einem solchen Vorgehen auf sich nimmt, hat die klinische Nachprüfung damals und auch später erschwert.

Bingels Veröffentlichung über seine Heilerfolge mit Normalserum in 466 Fällen rief eine große Anzahl von Gegenäußerungen auf den Plan. Doch bestehen die sachlichen Einwände gegen *Bingels* Statistik nur zum Teil mit Recht.

Auch wenn *Bingel* auf *Bonhoffs* Einwand, daß die Antitoxinfreiheit seines Normalserums nicht erwiesen wäre, später mitteilte, daß tatsächlich das eine von den benutzten Normalsera einen Antitoxingehalt von 3 J. E. aufgewiesen hatte, so ist doch sein Vorgehen — jeder 2. Fall von Diphtherie wurde mit Normalserum behandelt, die anderen mit antitoxischem Pferdeserum, ohne daß der behandelnde Arzt wußte, was für ein Serum er injizierte — so objektiv wie nur möglich und seiner Statistik über 471 mit antitoxischem Heilserum und 466 mit Normalserum behandelte Fälle eine gewisse Beweiskraft nicht abzusprechen. Auch der Einwurf, daß zufällig mehr schwere Fälle der Antitoxinbehandlung zugeführt worden sind, kann das Ergebnis nur teilweise zu Ungunsten des Normalserums verschieben.

Über ähnliche günstige Erfolge mit Normalserum ist bei den klinischen Nachprüfungen nicht wieder berichtet worden (Siehe Anmerkung auf Seite 28). Daß diese Nachprüfungen nicht in demselben Umfange stattgefunden haben und oft nur leichte Fälle mit Normalserum behandelt worden sind, ist auf das Bedenken zurückzuführen, von dem langbewährten antitoxischen Heilserum abzugehen, ohne an seine Stelle etwas Besseres als im besten Falle etwas Gleichwertiges setzen zu können; dies erhöht aber nicht die Beweiskraft dieser Untersuchungen! So ist die oben angeführte Forderung *Rollys* bis heute nicht erfüllt, und die einzige einwandfreie Statistik über den Wert des antitoxischen Pferdeserums von *Fibiger*, der eine große Zahl von Fällen mit antitoxischem Serum behandelte, eine ebenso große Anzahl aber ohne Seruminjektionen ließ, zieht leider die Frage der Wirkung des Normalserums nicht in Betracht. Trotzdem gibt es im Schrifttum eine Reihe von Angaben über die Behandlung der Diphtherie mit Normalserum, die, wie wir im folgenden sehen, doch zusammengenommen einige Schlüsse zu ziehen ermöglichen.

Feer (1919) hat eine Zeitlang alle leichten Fälle mit Normalserum behandelt und dabei festgestellt, daß die Abstoßung der Beläge durchschnittlich 2 Tage länger dauert als bei Anwendung von antitoxischem Pferdeserum. Auch sah er bei diesen

Untersuchungen seit langer Zeit zum ersten Male wieder, daß der Kehlkopf nachträglich von der Diphtherie ergriffen wurde. *Herzfelds* (1919) Ergebnisse stimmen mit denen *Feers* weitgehend überein. Auch *Karger* (1919) sah keine Erfolge mit Normalserum ebenso wie *Albrecht* (1919), die bei Anwendung von Normalserum ein Übergreifen der Beläge vom Rachen auf den Kehlkopf bemerkte.

Dagegen kamen *Klotz* (1919) und *Dorn* (1919) auf Grund ihrer klinischen Beobachtungen nicht zu diesem völlig ablehnenden Standpunkt. *Klotz* bemerkte niemals, daß bei Anwendung von normalem Pferdeserum die Abstoßung der Beläge verzögert wurde und warnte davor, den Antitoxingehalt des Heilserums einseitig auf Kosten der unspezifischen Serumkomponente in die Höhe zu treiben. Auch *H. Meyer* (1920) glaubt, indem er sich auf seine klinischen Erfahrungen stützt, dem Normal-Pferdeserum eine gewisse Heilwirkung nicht absprechen zu können, die seiner Ansicht nach wohl auf die Wirkung des artfremden Eiweißes zurückzuführen sei, und *Husler* (1931) schreibt dem normalen Pferdeserum eine möglicherweise unspezifische entzündungshemmende Wirkung zu, wenn er diese auch zur Heilung für nicht wirksam genug hält.

Auf Grund dieser klinischen Untersuchungen ergibt sich also keine einheitliche Auffassung über die Heilwirkung des normalen Pferdeserums. Doch scheint darüber bei den Klinikern Übereinstimmung zu herrschen, daß dem normalen Pferdeserum ein prophylaktischer Wert, wie er bei dem antitoxischen Serum zweifellos vorhanden ist, nicht zukommt. In therapeutischer Beziehung wird dem normalen Pferdeserum eine gewisse günstige Beeinflussung der Diphtherie zugesprochen werden müssen, die an die des antitoxischen Heilserums aber nicht im geringsten heranreicht.

Auch experimentell ist die Frage eingehend geprüft worden, die Untersuchungen haben aber auch hier keine einheitlichen Ergebnisse gehabt.

Schon 1898 hat *F. Henke* Heilversuche mit antitoxischem Heilserum und gewöhnlichem Rinder- und Menschenserum an infizierten Meerschweinchen angestellt. Er kam zu dem Schluß, daß das antitoxische Heilserum bei der Diphtherie im Gegensatz

zu dem Tetanus auch noch bei ausgebrochener Erkrankung günstig wirkt, daß aber mit normalem Menschen- oder Rinderserum keine Erfolge zu erzielen sind. Seine Versuche sind aber wegen der geringen Anzahl der Versuchstiere und einiger Fehlerquellen nicht ganz beweiskräftig. 1919 hat dann *Friedberger*, der die klinische Heilwirkung des antitoxischen Serums in Zweifel zog, Versuche über die Wirkung des Normalserums an Meerschweinchen ausgeführt und kam zu Ergebnissen, die im ausgesprochenen Gegensatz zu den klinischen Erfolgen *Bingels* standen. Die Meerschweinchen, die mit $^1/_2$ Öse eines Diphtheriestammes intrakutan geimpft worden waren und dann antitoxisches Serum intravenös erhalten hatten, zeigten klar und deutlich den heilenden Einfluß des Antitoxins, während das Normalserum in keinem Falle das Tier schützte, ja in großen Mengen sogar einen scheinbar ungünstigen Einfluß ausübte.

Zu etwas anderen Ergebnissen kam *S. Meyer* (1919), die reines Diphtherietoxin, also keine Bazillen wie *Friedberger*, zur Injektion benutzte. Das normale Pferdeserum hatte im Gegensatz zum antitoxischen Serum keine präventive Fähigkeit, es hatte keine Wirkung bei Mischinfektion mit Streptokokken und auch keine Wirkung, wenn es 2—4 Stunden nach der Toxininjektion injiziert wurde. Bei gleichzeitiger Applikation von Toxin und Serum aber blieb ein Drittel der Tiere am Leben. Auch *W. Kastenmeyer* (1919) fand diese Wirkung; von 9 Meerschweinchen, die 4—10fach tödliche Dosen Diphtheriegift und gleichzeitig 1—10 ccm normales Serum erhalten hatten, blieben 2 am Leben; die Tiere aber, denen lebende Diphtheriebazillen injiziert worden waren, wurden ausnahmslos (6 Stück) durch 1—10 ccm Normalserum geschützt, während die Kontrolltiere alle eingingen. Dieser Unterschied der Normalserumwirkung bei Diphtherieintoxikation und Infektion trat auch in ausgedehnten Versuchen in Erscheinung, die *Kolle* und *Schloßberger* (1919) anstellten. Sie stellten fest, daß das normale Pferdeserum bei Tieren, die mit Diphtherietoxin vergiftet worden waren, gar keine, bei solchen Tieren, die mit lebenden Diphtheriebazillen infiziert worden waren, eine sehr geringe Heilwirkung hatte, die aber weder qualitativ noch quantitativ mit derjenigen des Diphtherieserums verglichen werden konnte. Diese geringe Heilwirkung bestand in einer Verzögerung des Todes, die aber nur bei sehr großen Serumdosen zutage trat. Bei Mäusen, die bekanntlich wenig empfänglich für das Diphtherietoxin sind, dagegen bei Einverleibung von lebenden Diphtheriebazillen regelmäßig eingingen, hatte das normale Pferdeserum weder Schutz- noch Heilwirkung, während mit antitoxischem Heilserum Heilung erzielt werden konnte.

Zu ganz anderen Ergebnissen kamen einige englische Autoren. *Cowie* und *Greenthal* (1921) fanden, daß normales Pferdeserum, das in einer Menge von 1 ccm zu gleicher Zeit wie das Diphtherietoxin injiziert wurde, Meerschweinchen immer gegen eine D. l. m. (Dosis letalis minima) schützt und sogar noch 8 D. l. m. zu neutralisieren vermag. In dem Referat — das Original war leider nicht zugänglich — wird nicht angegeben, ob das normale Pferdeserum vorher auf seinen Antitoxingehalt geprüft worden war, doch sind die Autoren der Ansicht, daß die schützende Wirkung des normalen Pferdeserums gegen Diphtherietoxin dem natürlichen Antitoxingehalt des Serums zuzuschreiben und nicht auf unspezifische Eiweißkörper zurückzuführen ist. Auch *Mackie* (1923) stellte fest, daß Meerschweinchen, die subkutan mit Diphtheriebazillen infiziert worden waren, durch gleichzeitig injiziertes Normalserum geschützt

wurden, und zwar neutralisierten 2 ccm gewöhnliches Pferdeserum 12 tödl. Dosen Diphtheriekultur. Eine Schutzwirkung war aber nicht mehr vorhanden, wenn 2 Stunden zwischen Infektion und Serumapplikation vergangen waren. Auch andere Normalsera vom Rind, Schaf, Kaninchen, Mensch, ebenso von artgleichen Meerschweinchen übten in größeren Mengen von 5—10 ccm eine Schutzwirkung bei der Infektion mit Diphtheriebazillen, dagegen nicht bei Injektion von Diphtherietoxin aus. In prophylaktischer Beziehung war das Normalserum unwirksam.

Die lokale toxische Wirkung wurde durch das Normalserum nicht beeinflußt.

Diese Angaben widersprechen allen anderen experimentellen Ergebnissen. So wurden von *Sato* (1922) Versuche veröffentlicht, bei denen dieser durch Einreiben virulenter Diphtheriebazillen bei Kaninchen einen diphtherischen Prozeß verursacht hatte. Nur bei leichter Infektion schützte das Normalserum das Tier vor dem Tode und hatte hierbei dieselbe Wirkung wie 200—250 AE. Bei schweren Infektionen hatte das Normalserum keine Wirkung, während 1200—3600 AE bei intravenöser Injektion nach 8 Stunden p. i. Heilung herbeiführten.

Auch *Ratnoff* (1923) spricht dem Pferde- und Meerschweinchenserum auf Grund eigener Untersuchungen jede Schutzwirkung ab; *Glusmann* (1924), der Kaninchen-, Meerschweinchen-, Rinder-, Hunde-, Ziegen- und Pferdesera in ihrer Wirkung auf 3mal tödliche Dosis des Diphtherietoxins oder einer Diphtheriebazillenkultur untersuchte, nimmt denselben ablehnenden Standpunkt ein, und *Neschtsehadimento* (1924) hatte bei seinen Versuchen an Kaninchen und Meerschweinchen nur mit antitoxischem Heilserum Erfolg, während entsprechende Mengen Normalserum unwirksam waren.

Auch in eigenen Versuchen (1931) wurde die Wirkung des Normalserums bei Diphtherieintoxikation und -infektion geprüft. Das Ergebnis war durchweg negativ. Zwei kleine Versuchsreihen mögen aus der größeren Zahl der Experimente angeführt werden (Tab. 1 und 2).

Tabelle 1

Meerschw.-Nr.	gleichzeitig		
471	1—2 D. l. m. sbc.	1,0 Norm. Pferdeser. sbc.	† am 2. Tag p. i., großes Infiltrat, typ. Di.-Tod
395	1—2 D. l. m. sbc.	2,0 Norm. Pferdeser. sbc.	† am 2. Tag p. i., großes Infiltrat, typ. Di.-Tod
386	1—2 D. l. m. sbc.	Kontrolle	† am 1. Tag p. i.

3 Meerschweinchen wurden 1—2 D. l. m. subkutan injiziert, die bei dem Kontrolltier den Exitus am 1. Tag nach der Injektion herbeiführten. Die beiden anderen Meerschweinchen,

die 1,0 bzw. 2,0 ccm normales Pferdeserum subkutan — gleichzeitig mit der Toxininjektion — erhalten hatten, gingen am 2. Tag zugrunde. Diese geringe Verzögerung des Todes, die auch bei anderen Versuchen hin und wieder, aber nicht regelmäßig zutage tritt, kann man nicht der Wirkung des Normalserums zuschreiben.

Die D. l. m. ist ja keine absolute Größe, wenn sie auch als diejenige Giftmenge definiert wird, die bei subkutaner Einspritzung ein 250 g schweres Meerschweinchen nach 3 – 4 Tagen tötet (typ. Sektionsbefund: subkut. Infiltrat, Pleuraexsudat, Vergrößerung und Rötung der Nebennieren). Wenn man nämlich 100 Meerschweinchen je 1 D. l. m. injiziert, so sterben einige erst nach 5—6 Tagen, einige nach noch längerer Zeit und einige bleiben am Leben. Richtet man dagegen die D. l. m. so ein, daß alle Meerschweinchen sterben, so gehen einige schon nach 2 Tagen zugrunde. Die D. l. m. ist also nur ein Mittelwert, was bei kleinen Tierreihen sehr zu beachten ist. Andererseits ist es wichtig zu wissen, daß 1 D. l. m. in vitro schon durch ein wenig mehr als 1:100 AE (Antitoxineinheit) neutralisiert werden kann (eine AE ist die Antitoxinmenge, die mit einer GE = L+ Giftmenge = etwa 100 D. l. m. gemischt, ein Meerschweinchen von 250 g [subkutan injiziert] am 4. Tage tötet).

Bei einem anderen Versuch mit infizierten Meerschweinchen (s. Tab. 2) wurden alle Meerschweinchen mit 1:15 Öse des Diphtheriestammes Breslau 10445, der besonders virulent ist und von dem 1:30 Öse, in Bouillon verrieben, die Meerschweinchen in ca. 4 Tagen sicher tötet, subkutan infiziert. Sie erhielten gleichzeitig damit verschiedene Mengen normales Pferdeserum, normales Kaninchen- oder normales Meerschweinchenserum. Das Kontrolltier ging am 2. Tage nach der Injektion ein, die anderen Tiere starben regellos am 2. oder 3. Tage nach der Injektion. Die Sektion ergab bei allen Tieren die typischen Symptome des Diphtherietodes.

Es war also durch das Serum keine Verzögerung im Zeitpunkt des Todes, geschweige eine Schutzwirkung zu erkennen. Wie gesagt, sind diese Meerschweinchen mit besonders virulenten Diphtheriebazillen infiziert worden. Ob das Normalserum gerade gegen solche hochvirulenten Stämme unwirksam ist und Unterschiede in der Normalserumwirkung gegen verschiedene Stämme bestehen, konnte nicht näher untersucht werden.

Weiter muß darauf hingewiesen werden, daß bei allen Versuchen nur normales Pferdeserum verwendet wurde, das bei der intrakutanen Auswertung nach *Römer* einen Antitoxingehalt von sicher weniger als 1:200 AE im ccm aufgewiesen hatte.

Diese Feststellung ist von großer Wichtigkeit. Werden doch von den Serumwerken sehr oft Sera von Tieren, die sich für eine hochwertige Serumerzeugung als ungeeignet herausgestellt hatten, als für unspezifische Reiztherapie geeignete Normalsera abgegeben. Auch kann der normale Antitoxingehalt eines Serums so hoch sein, daß er die wissenschaftlichen Untersuchungen verfälscht und zu völlig falschen Folgerungen führt.

In diese Betrachtung der klinischen und experimentellen Normalserumwirkungen müssen noch die Untersuchungen über die Änderung der intrakutanen Diphtherietoxinreaktion nach Schick einbezogen werden.

Tabelle 2

Meerschw. Nr.	Infektion gleichzeitig	Behandlung	
472	1/15 Öse, Breslau 10445 sbc.	1,0 norm. Pferdeserum sbc.	† am 3. Tage n. d. Injektion
473	„	2,0 norm. Pferdeserum sbc.	† am 2. Tage n. d. Injektion
467	„	3,0 norm. Pferdeserum sbc.	† am 3. Tage n. d. Injektion
391	„	2,0 norm. Kaninchenserum sbc.	† am 3. Tage n. d. Injektion
392	„	2,0 norm. Meerschweinchenserum sbc.	† am 2. Tage n. d. Injektion
387	„	♂ Kontrolle	† am 2. Tage n. d. Injektion

Versuche in dieser Richtung sind 1920 von v. *Groer* angestellt worden, der feststellte, daß das antitoxinfreie Serum die spezifische Diphtherietoxinwirkung beim Menschen in Form der Schickreaktion nicht aufzuheben vermag. Wohl aber können die gleichzeitig mit der Serumeinverleibung oder kurz vorher einsetzenden Entzündungen beschleunigt und verstärkt, später entstandene Entzündungen und längere Zeit vorher gesetzte Reaktionen gehemmt werden. So ist nach seiner Ansicht dem Normalserum wohl ein Einfluß auf die Entzündungsvorgänge, aber keine Wirkung auf das Toxin selbst zuzusprechen. Dagegen gibt *Nasso* (1925) an, daß nach Einspritzung von normalem Pferdeserum mit sicher weniger als 1:10 AE im ccm eine Änderung der Schickreaktion nachweisbar in Erscheinung trat, was aber *Spolverini* (1922) in seinen Versuchen nicht festgestellt hat. Daß bei *Nassos* Untersuchungen der geringe Antitoxingehalt des Pferdeserums eine Rolle spielte, ist nicht anzunehmen, da sich erst bei einer Menge von 50—100 AE pro kg Körpergewicht, die gleichzeitig mit der Schickreaktion injiziert werden, eine nachweisbare Abschwächung und Unterdrückung der Schickreaktion zeigt (v. *Groer* und *Progulski*). Vor kurzem hat dann *Hottinger* Untersuchungen an Schick-positiven Kindern veröffentlicht, durch die, wie er schreibt, seine Vermutung, daß die Einleitung der Heilungsvorgänge nicht allein durch den Antitoxingehalt des Serums bedingt wird, sondern ganz wesentlich vom unspezifischen Eiweißreiz des Pferdeserums abhängt, zur sicheren Überzeugung wurde. Er hat Schick-positiven Kindern intramuskulär normales Pferdeserum injiziert, 0,5—2,0 pro kg Körpergewicht, und 6 Stunden vorher, dann gleichzeitig

mit der Seruminjektion und 24 Stunden später an demselben Kinde die Schickprobe angestellt, die in der Mehrzahl der Fälle beim 2. oder 3. Male negativ ausfiel. Der Autor führte diese Änderung der Schickreaktion auf die Wirkung des Normalserums zurück, während dagegen doch der Einwand gerechtfertigt ist, ob nicht etwa durch die vorhergegangenen Schickproben der Organismus zur Antitoxinbildung angeregt worden ist, die den negativen Ausfall der folgenden Schickreaktion bewirken kann. *Opitz* hat diese Ansicht schon früher durch Experimente belegt. Andererseits ist zu bemerken, daß *Hottinger* wohl auch nicht absolut antitoxinfreies Serum in Händen hatte, obwohl dieser Umstand, wie unten bemerkt, nicht zur Erklärung seiner Ergebnisse herangezogen werden kann*).

Es wurden zur Klärung dieser Frage ähnliche Untersuchungen an Meerschweinchen angestellt, ohne selbstverständlich die Ergebnisse an den Versuchstieren kritiklos in Beziehung zu *Hottingers* Versuchen an Kindern bringen zu wollen (siehe Tabelle 3).

Schickreaktion am Meerschweinchen.

1. Antitoxisches Pferdeserum.
2. Normales Pferdeserum.

Tabelle 3

Meerschw.-Nr.			1. Tag	2. Tag	3. Tag	
389	1 AE antitox. Pferdeserum sbc.	Schickpr. sofort	sehr geringe Rötung u. Infiltration	∅		Alle Tiere sind Schick-negativ
381	„ „	Schickpr. n. 1 Std.		∅		
395	„ „	„ 5 „		∅		
410	„ „	„ 8 „		∅		
477	„ „	„ 24 „		∅		
470	2,0 norm. Pferdeser. sbc. < 1:200 AE	Schickpr. sofort	++	+++	+++	
476	„ „	Schickpr. n. 1 Std.	+	+++	+++	
498	„ „	„ 5 „	++	+++	+++	
499	„ „	„ 24 „	·	+++	+++	
475	2,0 vor 2 Std.	Schickpr. sofort	++	+++	+++	Alle Tiere sind Schick-positiv
491	2,0 norm. Pferdeserum	Schickpr. sofort	+	+++	+++	
492	2,0 norm. Pferdeserum	Schickpr. n. 2 Std.	++	+++	+++	
493	„ „	„ 5 „	++	+++	+++	++ +++ bedeuten zunehmende Rötung und Infiltration
490	„ „	„ 24 „	—	++	+++	
483	— —	Schickkontr. ohne Serum	++	+++	+++	

*) *Hottinger* hat später auch Serum benutzt, das geprüft sicher weniger als 1/200 AE im ccm hatte.

Es wurde zunächst festgestellt, daß 1 AE eines hochwertigen antitoxischen Pferdeserums die Schickprobe, die gleichzeitig mit der Antitoxininjektion und 1, 5, 8, 24 Stunden danach bei verschiedenen Meerschweinchen angestellt wurde, unterdrückte.

Es wurden dann einigen Meerschweinchen je 2,0 ccm normales Pferdeserum, das weniger als 1:200 AE im ccm enthielt, subkutan injiziert und bei je einem Tier die Schickprobe sofort, nach einer Stunde, nach 5 und nach 24 Stunden angestellt. Die Reaktion war bei allen Tieren nach 24 und 48 Stunden einwandfrei positiv. Dieses Ergebnis entspricht den Erfahrungen *Mackies* (1923), der bei Injektionen von normalem Pferdeserum die lokale toxische Wirkung des Diphtheriegiftes nicht beeinflußt fand, und früheren nicht veröffentlichten Versuchen von *W. Scholz* (Behringwerke).

Man kann den Ausfall dieser Tierversuche nicht ohne weiteres mit *Hottingers* Ergebnissen vergleichen, da die Bereitschaft, Antitoxin zu bilden, bei dem Menschen zweifellos in hohem Grade vorhanden ist und bei dem geringsten Toxinreiz ausgelöst und durch Zufuhr von artfremdem Serum wohl noch verstärkt werden kann. Sicher ist die Verschiedenheit der Haut und ihrer Reaktionsweise bei Mensch und Tier ebenfalls von Bedeutung. Auch hat *Hottinger* in einer persönlichen Mitteilung an Prof. Schmidt angegeben, daß Kontrollversuche mit mehreren Schickreaktionen an denselben schickpositiven Kindern ohne Normalserum im Gegensatz zu *Opitz* keine Änderung der Schickreaktion ergeben hätten.

Die Beeinflussung der Schickreaktion durch unspezifische Mittel, deren Möglichkeit beim Menschen wohl anzuerkennen ist, spricht dafür, daß das Zustandekommen der Schickreaktion auch von Faktoren abhängig ist, die z. T. durch die Reaktionsfähigkeit des autonomen Nervensystems bedingt sind. Jedenfalls ist die Schickreaktion ebensowenig wie die Dickreaktion nicht nur auf toxisch-antitoxischer Basis zu erklären.

Auf die Beeinflussung der Schickreaktion durch andere Reizkörper wird später noch im Zusammenhang mit der Frage der Wirkung unspezifischer Reizkörper kurz eingegangen werden.

Es stehen sich also sowohl bei der klinischen wie auch bei der experimentellen Forschung sehr widersprechende Angaben gegenüber, für die gültige Erklärungen nicht in allen Fällen zu finden sind.

Besonders erlauben die klinischen Beobachtungen noch kein abschließendes Urteil, wenn auch aus ihnen die vorläufige Folgerung gezogen werden kann, daß das antitoxinfreie Serum bei sehr frühzeitiger Anwendung eine Heilwirkung entfaltet, die zwar nicht im geringsten an die Wirkung großer Antitoxinmengen heranreicht, aber doch einen sichtbaren Einfluß auf die Entzündungsvorgänge hat. In diesem Sinne können auch die experimentellen Ergebnisse verwertet werden, bei denen sich ein deutlicher Unterschied in der Beeinflussung der Meerschweinchenintoxikation mit Toxin und Meerschweincheninfektion mit Bazillen herausgestellt hat. Mit Diphtheriebazillen infizierte Meerschweinchen konnten durch Normalserum viel öfter am Leben erhalten werden als mit Toxin vergiftete Tiere. Wenn dieser Erfolg nicht überall eingetreten ist, so kann das darauf zurückgeführt werden, daß die Versuchstiere, wie schon *v. Behring* feststellte, besonders schwer krank und meist viel kränker als die Menschen sind, und andererseits die Diphtheriebazillenstämme in ihrer Virulenz und Toxigenität sehr starke Unterschiede aufweisen.

Es muß noch auf die Frage eingegangen werden, worauf wohl die Wirkung des antitoxinfreien Serums beruht.

Wenn auch heute allgemein eine unspezifische Reizwirkung des Serums angenommen wird, so ist doch die Frage, ob nicht normale Antikörper des Serums mitverantwortlich zu machen sind, noch in Erörterung zu ziehen. So führen *Kraus* und *Sordelli* (1921) die Wirkung des gewöhnlichen Pferdeserums auf seinen normalen Antitoxingehalt zurück, der in einem jeden Pferdeserum auch ohne Vorbehandlung des Pferdes erfahrungsgemäß in höherem oder geringerem Grade vorhanden ist. Für diese Ansicht würde auch die Beobachtung *Mackies* sprechen, die darin besteht, daß die Serumwirkung nach Erhitzung auf 56° noch vorhanden, aber nach Erhitzung auf 70° geschwunden war, da ja z. B. das Komplement bei 56°, das Antitoxin dagegen erst bei 70° zerstört wird. Doch haben die Untersuchungen über die Schutz- und Heilwirkung von Antitoxinmengen viel höhere Mindestdosen an AE, die eine Heilung bewirken, ergeben als in der Regel durch normales Serum

zugeführt wurde. (Erst 1 AE schützt ein Meerschweinchen, das mit 1:15 Öse eines virulenten Diphtheriestammes infiziert worden ist, sicher vor dem Tode.) Immerhin ist diese Beobachtung insofern von grundsätzlichem Interesse, da sie auch gegen die Annahme einer unspezifischen Reizwirkung des Serums herangezogen werden kann. Denn es ist schwer verständlich, warum das Serumeiweiß seine Reizwirkung, die es bei 56° nach *Mackies* Untersuchungen sicher besitzt, durch die Erhitzung auf 70° verlieren soll. Aber auch die Feststellung *Mackies*, daß die lokale toxische Wirkung, die durch Antitoxin stets kupiert wird, durch Normalserum nicht beeinflußt wird, spricht gegen den Wert der Normalantitoxine *(v. Groer, Schick)*, die ja als wirksame Antitoxine auch die lokale Toxinwirkung aufheben müßten.

Eine bakterizide Wirkung des Normalserums auf die Diphtheriebazillen kann nicht angenommen werden, da schon *Ohkubo* 1910 festgestellt hat, daß Normalserum weder für sich allein noch zusammen mit frischem Meerschweinchenserum als Komplement eine bakterizide Wirkung auf Diphtheriebazillen auszuüben imstande ist.

Somit ist auch dem Komplementgehalt des Normalserums keine grundsätzliche Bedeutung zuzuschreiben, zumal *Mackie* (1923) sowohl mit frischem als auch mit solchem Normalserum, das auf 56° erhitzt worden war, die gleichen Ergebnisse erzielte.

(Die Rolle des Komplementes bei der Diphtherie wird an anderer Stelle noch einer eingehenden Erörterung unterzogen werden.)

Aus demselben Grunde wird die opsonische Wirkung des Normalserums, die es im aktiven Zustand auf Diphtheriebazillen ausübt *(Sauerbeck* 1909, *Ohkubo* 1910), nicht zur Erklärung herangezogen werden können. Außerdem ist es nicht unwahrscheinlich, daß diese eine Nebenwirkung des Antitoxins ist, da antitoxisches Serum bedeutend stärker opsonisch wirkt.

Die Ansicht, die dem Normalserum eine unspezifische Reizwirkung zuschreibt, hat wohl mehr Berechtigung. Ob dabei aber eine unspezifische Protoplasmaaktivierung *(Weichhardt)*, eine Erhöhung des Komplementgehaltes und Beschleunigung der Komplementregeneration *(Bessau)*, eine Reizung des hämatopoetischen Systems oder ähnliche Vorgänge wie ein Einfluß auf das reticuloendotheliale System die Hauptrolle spielen, mag unerörtert bleiben, jedenfalls tritt infolge des parenteral zugeführten artfremden Eiweißes eine Resistenzerhöhung des Körpers, eine Leistungssteigerung der Zellgesamtheit ein, die sich günstig auf den Krankheitsverlauf auswirkt. Vielleicht spielt dabei aber auch die Mobilisierung des Normalantitoxins durch das artfremde Eiweiß des Normalserums eine Rolle.

Wenn diese Ansicht zur Erklärung der Normalserumwirkung dienen soll, so wäre es, wie schon *Schwenkenbecher* 1921 ausführte, denkbar, daß andere Substanzen eine noch intensivere, unspezifische Wirkung entfalten können als die Proteinkörper der artfremden Sera. Dieser Auffassung entsprechend sind Versuche mit anderen Eiweißkörpern angestellt worden.

Cowie und *Greenthal* haben festgestellt, daß Hühnereiereiweiß, Milch, Meerschweinchen- und Kaninchenserum die Versuchstiere gegen die tödliche Dosis von Diphtherietoxin bei subkutaner Injektion nicht schützen. *Mackie* hat Eiereiweiß, Milch und Peptone in ihrer Wirkung auf Diphtherieinfektion und -Intoxikation des Meerschweinchens untersucht und ist zu völlig negativen Ergebnissen gekommen; *Herzfeld*, *Meyer-Umhöfer* und *Becker* (1926) haben den Einfluß von Proteinkörpern bei intrakutaner und subkutaner Vergiftung festzustellen versucht und sprechen der unspezifischen Therapie auf Grund ihrer negativen Untersuchungsbefunde nur eine untergeordnete Rolle zu; *v. Groer* hat mit Omnadin, Milch, Caseosan und normalem Pferdeserum keinen Einfluß auf das Negativwerden der Schickreaktion erzielt. Bei Anwendung von Caseosan und inaktiviertem Hammelserum kam die Diphtherieinfektion zur vollen Ausbildung. *Lorenz* (1932) hat mit Pyrifer, das bakterielle Eiweißstoffe enthält, in einigen Fällen sogar ein Positivwerden bisher negativer Schickproben und damit einhergehend einen Abfall des Antitoxintiters im Blut beobachtet. Er hat nie, wie von *v. Groer* angegeben worden war, nach anfänglichem Sinken des Antitoxingehaltes einen stärkeren Anstieg des Antitoxintiters im Blut nach Pyriferinjektion bemerkt.

Diese letzten Angaben sind wohl nicht für das Für und Wider hoch zu bewerten, da die intravenöse Pyriferinjektion, die mit hohem Fieberanstieg, teilweise mit Schüttel-

frost und Erbrechen einhergeht, einen zu starken Reiz bedeutet, und bekanntlich durch schwere Fieberattacken und Infektionskrankheiten der Antitoxintiter im negativen Sinne beeinflußt (negative Phase) und die Widerstandskraft des Organismus verringert wird. Im Widerspruch zu diesen Angaben hat *Holler* (nach einer Veröffentlichung von *R. Schmidt*) schon 1916 mit der *Lüdke'schen* Albumosenbehandlung anscheinend günstige Erfolge bei der Diphtherie gehabt.

Alle diese Untersuchungen reichen zwar nicht aus, um ein abschließendes Urteil fällen zu können. Insbesondere sind die Erfahrungen mit unspezifischen Reizkörpern bei der experimentellen Meerschweinchendiphtherie sehr gering und müssen noch vervollständigt werden. Jedoch lassen sich immerhin folgende Folgerungen ziehen:

Das antitoxinfreie Normalserum übt auf die Diphtherie bei Mensch und Tier einen gewissen günstigen Einfluß aus, der sich bei der menschlichen Diphtherie in leichten Fällen, bei der Meerschweinchendiphtherie nur auf die Infektion mit lebenden Bazillen, nicht auf die Intoxikation mit Toxin allein, bemerkbar macht.

Die Wirkung des Serums kann nicht auf die normalerweise im Serum vorhandenen Antikörper zurückgeführt werden. Sie ist vermutlich die Folge des unspezifischen Reizes, den die Serumeiweißkörper auf den lebenden Organismus ausüben. Mit anderen Eiweißkörpern sind in der Mehrzahl der Fälle ähnliche Wirkungen auf die Diphtherie nicht nachgewiesen worden.

Es ist möglich, daß durch das normale Serum die Bildung und Mobilisierung von körpereigenem Antitoxin beschleunigt wird, doch wird dadurch die lokale toxische Wirkung des Toxins, wie sie z. B. die Schickreaktion darstellt, im Tierversuch nicht aufgehoben. Die verschiedenen Ergebnisse bei Mensch und Tier können wohl teilweise mit den besonderen Immunverhältnissen des Menschen erklärt werden, die in der serologischen Reifung, in der Bereitschaft des älteren Kindes, auf den geringsten Reiz hin Antitoxin zu bilden, in dem Antitoxingehalt des Serums Erwachsener, die nie eine Diphtherie gehabt haben, usw. ihren Ausdruck finden. Im Gegensatz dazu ist das Experimentaltier, das Meerschweinchen, i m m e r für die Diphtherieinfektion empfänglich.

In erster Linie besteht aber wohl die Wirkung des Normalserums in einer Beeinflussung der durch die Bakterien erzeugten Entzündungsvorgänge.

Ein prophylaktischer Wert kommt dem Normalserum nicht zu.

II. Wirken in den Heilversuchen mit dem rein antitoxischen Serum, das durch Immunisierung mit Toxin erhalten wird, noch andere Serumbestandteile, die von dem Antitoxin verschieden sind, nachweisbar mit?

Dieses Ergebnis, das die Auffassung von der bedeutend geringeren Schutzwirkung des Normalserums gegenüber dem antitoxischen Serum bestätigt, läßt es gerechtfertigt erscheinen, in jedem Falle von Diphtherie antitoxisches Serum, nie aber Normalserum allein zu injizieren. Doch erhebt sich bei dieser Forderung die Frage, ob bei dem antitoxischen Heilserum das Antitoxin der allein wirksame Antikörper ist oder ob nicht noch andere Antikörper, vielleicht auch die unspezifische Serumkomponente, von Bedeutung sind. So hat schon *Kastenmeyer* auf Grund seiner oben angeführten Versuche die „kühne Schlußfolgerung" gezogen, daß die antitoxische Komponente den einen Teil der Aufgabe, das Paralysieren des Toxins, das Pferdeserum den anderen Teil, die Stimulierung des Knochenmarks und damit die Einleitung des Heilungsvorgangs am Infektionsherd, auf sich nimmt und daß beide zusammen erst den vollen Heilerfolg ergeben. In ähnlicher Weise spricht *v. Groer* von der doppelten Wirkung des Heilserums, der spezifischen Antitoxinwirkung und der ergotropen Serumwirkung. Sicherlich ist die Deutung, welcher Wirkungsanteil dem Antitoxin, welcher der unspezifischen Komponente zuzuschreiben ist, nicht leicht. Auch werden sich immer mehrere Erklärungen für denselben Vorgang finden lassen. Es ist wohl möglich, daß der Heilwert des antitoxischen Serums n u r auf der paralysierenden Wirkung des Antitoxins beruht, wenn man von der Annahme ausgeht, daß das im Blut und Gewebe

vorhandene, passiv zugeführte Antitoxin das Toxin unschädlich macht und die natürlichen Abwehrkräfte des Organismus die Folgen der Infektion am Infektionsherd beseitigen können, während bei Behandlung mit Normalserum der Organismus erst auf indirektem Wege zu erhöhter und beschleunigter Bildung von Antikörpern, in diesem Falle bei Gegenwart von Toxin besonders von Antitoxin, angeregt wird. Somit würde das Normalserum die aktive Immunisierung nur fördern und verstärken, während die aktive Antitoxinbildung bei der passiven Immunisierung durch Zuführung von Antitoxin dem Körper erspart bliebe. Diese Annahme kann dadurch gestützt werden, daß erfahrungsgemäß die Zuführung von Antitoxin die eigene Antikörperbildung hemmt und nur einen vorübergehenden, passiven Schutz verleiht. Sie müßte aber durch vergleichende Untersuchungen über den Antitoxingehalt der Seren von Diphtheriekranken, die vor längerer Zeit mit antitoxischem Heilserum bzw. mit Normalserum behandelt worden find, ihre Bestätigung finden. Wenn dem Heilserum neben der antitoxischen noch diese indirekte Wirkung zukommt, die sich aber, wie gesagt, im erkrankten Organismus nicht besonders zu zeigen braucht, dann würde das menschliche Rekonvaleszentenserum einem vom Pferde gewonnenen Immunserum gegenüber einen Nachteil haben, dem aber andererseits der Vorteil gegenübersteht, daß durch die Arteigenheit des Serums das Bestreben des Körpers, das eingespritzte artfremde Eiweiß zu eliminieren, fortfällt. Die Ergebnisse, die mit Rekonvaleszentenserum (s. S. 35) erhalten worden sind, sind aber in dieser Hinsicht nur mit Vorsicht zu verwerten, da das Antitoxin dieser Sera von der Behandlung mit antitoxischem Pferdeserum herrührt, also gewissermaßen doch artfremd ist und nicht durch heilserumlose Behandlung der Diphtherie wirklich aktiv gebildet worden war. Von Interesse für diese Frage sind noch die vor kurzem gemachten Angaben von *Benedickt* und *Baar* über die Überlegenheit arteigenen Serums über artfremdes Serum gleichen Antitoxingehalts bei der Beeinflussung von Schickreaktionen, die auch gegen die Bedeutung der unspezifischen Reizwirkung des artfremden Serums sprechen.

Im Zusammenhang mit dieser Frage stehen die Erfahrungen, die immer wieder mit hoch- und geringwertigen antitoxischen Seren gemacht worden sind.

Roux hat schon 1900 mitgeteilt, daß eine Parallele zwischen dem Gehalt des Serums an J. E. (Immunitätseinheiten) und dem präventiven und kurativen Wert desselben Serums nicht besteht. Sera, die einen hohen Gehalt an J. E. hatten, ließen unter Umständen weit geringere heilende und schützende Eigenschaften erkennen als Sera, die nach ihrem Gehalt an J. E. zu schließen, viel minderwertiger sein müßten. Auch *Cruveilhier* stand auf dem Standpunkt, daß die Heilwirkung nicht ausschließlich von dem Gehalt an J. E. abhängt. Er hielt die antitoxische Wertbestimmung für nicht genügend, um etwas über die Wirksamkeit des Serums aussagen zu können. Dieser Auffassung entsprechend wurde dann in Frankreich die Bestimmung des titre antimicrobien eingeführt, um die nicht auf den Antitoxingehalt zurückführende Serumwirkung zu erfassen. Auch *Belfanti* (1929) teilte diese Ansicht, während u. a. *E. v. Behring, Ehrlich, Marx, Steinhardt* und *Banshaf* von dem alleinigen Heilwert des Antitoxins überzeugt waren und ein direktes Verhältnis zwischen Heilwert und Immunitätseinheiten annahmen. Auch in jüngerer Zeit stehen sich noch die verschiedenen Auffassungen gegenüber. *Husler* schreibt 1930, daß ihm eindrucksmäßig die Erfolge mit nicht gar zu hochwertigen Seren bei gleicher Dosierung besser zu sein scheinen und daß er hochwertiges mit niederwertigem Serum kombiniert; *Belfanti* und *Sato* dagegen sind der Ansicht, daß nur der Antitoxingehalt und nicht die Serummenge entscheidend ist.

Experimentell hat *Ratnoff* dieses Problem zu lösen versucht, indem er seinen Untersuchungen die Frage zugrunde legte, ob die spezifische Antitoxinwirkung eine Verstärkung durch die gleichzeitige Darreichung von Normalserum erfährt. Er kommt zu dem Ergebnis, daß dieses nicht der Fall ist und spricht sich für eine höhere Antitoxinmenge in geringem Serumvolumen aus. Auch *Jacobsen*, der bei seinen Versuchen die gleichen Antitoxindosen in geringen und in großen Serummengen zur Injektion verwandte, konnte keinen deutlichen Unterschied nachweisen, doch fand er eine geringe Überlegenheit der großen Serummengen in Bezug auf die Lokalerscheinungen; z. B. erfolgte die Membranabstoßung durchschnittlich einen halben Tag früher. Da die Gefahr der Serumkrankheit bei der letzten Behandlung nach seinen Untersuchungen fast nochmal so groß als bei der mit geringen Serummengen ist, nimmt er einen ähnlichen Standpunkt wie *Ratnoff* ein.

Diese verschiedenen Ergebnisse, die auch bis heute nicht zu einer von allen anerkannten Erklärung geführt haben, wenn sie auch z. T. auf die verschiedenen Resorptionsverhältnisse zurückzuführen sind*), macht die Erörterung der Frage nötig, ob das antitoxische Heilserum neben der Paralysierung des

*) Nach *Demnitz* und *Scholz* (1932) steht die Geschwindigkeit der Resorption im umgekehrten Verhältnis zum Eiweißgehalt.

Toxins noch besondere Wirkungen ausübt, die entweder Nebenwirkungen des Toxins sind oder aber Wirkungen, die nicht durch den Antitoxingehalt bedingt, aber auch von denjenigen des Normalserums verschieden sind.

Von solchen Wirkungen des antitoxischen Serums ist in erster Linie der Einfluß auf die Phagocytose zu nennen.

Bandi, Menabaoni, Sauerbeck, v. Gruber und *Ohkubo* haben schon vor langer Zeit die Steigerung der Phagocytose durch antitoxisches Heilserum erkannt und darauf hingewiesen, daß die opsonische Wirkung des antitoxischen Serums bedeutend kräftiger ist als die des Normalserums *(Ohkubo, Sauerbeck)*. Diese Steigerung der Phagocytose tritt aber nach ihren Versuchen nur bei Anwesenheit von Komplement auf. *Ohkubo* schließt daraus, daß das Diphtherieheilserum im Körper eine erhöhte Vertilgung der Diphtheriebazillen zur Folge habe. Im Gegensatz zu dem die Phagocytose fördernden Antitoxin soll das Diphtherietoxin eine phagocytosehemmende Wirkung haben *(Sauerbeck, Kantor* 1927), die *Ohkubo* aber bestreitet. Die Eigenschaft des Diphtherietoxins, beim Meerschweinchen und Kaninchen eine Leukocytose mit relat. Lymphopenie zu erzeugen, wird damit nicht berührt*). Auch *v. Behring* (cit. nach *Kleinschmidt*) hat geglaubt, daß das Heilserum in vivo einen antibakteriellen Effekt ausüben kann, der zwar in vitro in Bezug auf die Lebensfähigkeit der Löfflerbazillen nicht festzustellen ist. Er stützte sich dabei auf Versuche von *Ransom*, der das Verhalten von virulenten und avirulenten Diphtheriebazillen in der Bauchhöhle von Meerschweinchen untersucht hatte. Dieser hat gefunden, daß avirulente Diphtheriebazillen, die, in physiologischer NaCl-Lösung suspendiert, in die Bauchhöhle gebracht worden waren, der Phagocytose verfielen. Dagegen wurden virulente Bazillen erst dann von den Freßzellen aufgenommen und vertilgt, wenn man der Suspension eine geringe Antitoxindosis zugefügt hatte. Auf Grund dieser Beobachtungen empfahl *v. Behring* die lokale Behandlung der Bazillenträger mit Serum.

Die Frage, ob diese die Phagocytose fördernde Eigenschaft als eine Nebenwirkung des Antitoxins betrachtet werden kann oder aber einem im Immunserum stärker vorhandenen selbständigen Antikörper zuzuschreiben ist, ist nicht leicht zu beantworten. Es wäre möglich, die letztere Erklärung für die teilweise bessere Schutzwirkung des geringwertigen Heilserums heranzuziehen, wenn man den Diphtheriebazillen selbst eine gewisse Bedeutung außer derjenigen der Giftproduktion zuerkennt. Da das Antitoxin auch in höchstwertigen Seren noch nicht ganz rein und ohne andere Serumbestandteile erhalten werden kann — es ist ja hauptsächlich an das Pseudoglobulin

*) vergl. *Köbner:* Die Lymphozyten-Kurve als Mittel zur Beurteilung des Diphtheriekrankheitsverlaufes. Med. Welt. 1932, 1063.

des Serums gebunden - -, besteht immer die Möglichkeit, daß das Heilserum andere noch wirksame Bestandteile enthält. Die Herstellung der antitoxischen Seren durch Injektion von reinem Diphtherietoxin schließt es keineswegs aus, daß in diesem Impfstoff noch Bazilleneiweißkörper vorhanden sind, die ihrerseits spezifische Antikörperbildung hervorrufen. Doch ist es der ganzen Art der Herstellung nach sehr wenig wahrscheinlich, daß das Diphtherieheilserum vom Pferd echte Opsonine enthält, wenn man mit Opsoninen die Tätigkeit des Serums bezeichnet, die Phagocytose zu fördern. Diese Eigenschaft ist thermolabil und vielleicht identisch mit dem Komplement. Thermostabile, die Phagocytose fördernde Antikörper im Serum sind Tropine *(Neufeld)*, die kein Komplement brauchen, durch Komplement aber in ihrer Wirkung gesteigert werden. Wenn daher artfremdes Serum die Phagocytose fördert, dann wohl in Form der Stimulierung der körpereigenen Opsonine durch die Tropine, die experimentell einer Komplementsteigerung gleich käme.

Die Tropinwirkung des Immunserums wird heute als einzige antibakterielle Wirkung angenommen *(Andrews* usw.). Die bakteriziden Eigenschaften, die, z. B. von *Nicolas*, dem Immunserum zugeschrieben worden sind, sind wohl auch auf den Gehalt an Tropinen zurückzuführen. In rein bakterizider Hinsicht ist das Immunserum wohl sicher unwirksam. Schon *Henke* (1898) hat einen schädigenden Einfluß des antitoxischen Heilserums auf die Diphtheriebazillen verneint und in seinen Versuchen mit Diphtheriebazillen, die er auf erstarrtem Behring-Serum züchtete, nicht die geringste Abnahme der Virulenz gefunden. Auch *v. Behring* hatte schon festgestellt, daß sich die Diphtheriebazillen im antitoxischen Serum üppig vermehren, und *Herb*, der diesen Befund bestätigte, spricht die Vermutung aus, daß als Ursache für dieses Verhalten der Komplementmangel der Heilsera verantwortlich gemacht werden müsse. Doch haben andere Untersucher, wie z. B. *Ohkubo (Andrews)*, nachgewiesen, daß das Immunserum weder für sich allein, noch zusammen mit frischem Meerschweinchenserum als Komplement eine bakterizide Wirkung auf die Diph-

theriebazillen ausübt und auch lokal ohne Komplement keine Wirksamkeit besitzt.

Auch komplementbindende Antikörper sind im antitoxischen Serum in mehr oder weniger geringem Maße vorhanden.

Witebsky hat in antitoxischen Diphtheriesera komplementbindende Antikörper gegen Bazillenleibersubstanzen nachgewiesen. Diese Befunde konnten von J. Hirsch bestätigt werden, doch gaben *Ramon, Besseman, de Potter* (1930) an, daß die komplementbindenden Antikörper während der Immunisierung nach einem anfänglichen Anstieg wieder abnehmen und im endgültigen Immunserum nur in sehr spärlichem Maße vorhanden sind.

Ebenso gehen die Ansichten über den Agglutiningehalt des Heilserums sehr auseinander.

Nicalas und Mac Coney und Weld nahmen eine agglutinierende Fähigkeit des Heilserums als vorhanden an; *Martin, Prévot, Loiseau* haben die Beobachtung gemacht, daß schwache antitoxische Sera, die mit dem Gift alter Kulturen hergestellt worden sind, Agglutinine enthalten, während in höherwertigen antitoxischen Seren, die mit dem Gift jüngerer Kulturen hergestellt worden waren, Agglutinine nicht vorhanden waren. *Fränkel, Nicolle, H. Schmidt* lehnen die Ansicht von einem Agglutiningehalt der antitoxischen Heilsera ab, und *Lubowski* verschiebt die Frage auf die Art der Diphtheriebazillenstämme, von denen die einen agglutinabel, die anderen inagglutinabel sind. Vielleicht können auf diese Verschiedenheit der Bazillenstämme gewisse Unterschiede in den Untersuchungsergebnissen zurückgeführt werden, wenn diese Annahme auch nicht viel Wahrscheinlichkeit für sich hat. Konnte doch in unseren Agglutinationsversuchen (s. S. 40) mit antitoxischem Serum keine Agglutination erzielt werden, während dieselben Stämme durch antibakterielles Serum stark agglutiniert wurden.

So scheint die stärkere Tropinwirkung des antitoxischen Serums die einzige Eigenschaft zu sein, die es, abgesehen von der entgiftenden Wirkung des Antitoxins, von dem Normalserum unterscheidet. Doch wird man auf diese Eigenschaft nicht die in manchen Fällen bessere Wirkung geringwertigen Serums zurückführen können. Nach Untersuchungen aus dem *Madsenschen* Institut wird hiermit auch der noch umstrittene Begriff der Avidität in Zusammenhang gebracht, auf die hier nicht näher eingegangen werden soll. Außer diesen Erwägungen sprechen besonders die tierexperimentellen Untersuchungen *Ratnoffs* und *Jakobsons* gegen den praktischen Wert des Serumanteils bei dem antitoxischen Serum. Doch wird man immer wieder in Betracht ziehen müssen, daß die Erreger der Diph-

therie in ihrer Virulenz und Toxigenität außerordentlich große Unterschiede aufweisen. Deshalb ist es wohl denkbar, daß manche Stämme gegen die von dem Antitoxin verschiedenen Antikörper besonders empfindlich sind und durch die Wirksamkeit solcher Antikörper die Bazillen selbst, als primäre Krankheitsursache, so geschädigt werden, daß ihre Toxinproduktion erheblich leidet. In diesem Zusammenhang ist die Angabe *Beckers* (1927) von Interesse, daß stark toxische Diphtheriestämme auf antitoxischem Serum kein Toxin bilden, daß dieses also abschwächend auf die Toxinbildung wirkt.

Wenn also im allgemeinen die übrigen Antikörper des antitoxischen Serums, abgesehen vom Antitoxin, nicht von Bedeutung sind, und nur dem Antitoxin ein praktischer Wert zukommt, so ist auch der Serumanteil praktisch wertlos, da bei passiver Zufuhr von Antitoxin, das nachgewiesenermaßen dasselbe leistet wie körpereigenes Antitoxin, der Körper nicht erst noch zu eigener Antitoxinbildung angeregt zu werden braucht. Es müßte denn sein, daß dem artfremden Eiweiß wie auch anderen Serumeigenschaften, die keine „Antikörper" sind, eine unspezifische besondere Rolle zukommt, über deren Zustandekommen und Auswirkung sich aber bis heute nichts Sicheres angeben läßt.

Anmerkung. In einer größeren Arbeit „über die maligne, sogenannte toxische Diphtherie" (Abh. Kinderheilk. 1/32, H. 31, Berlin, S. Karger) hat *Hottinger* auf Grund eigener klinischer Versuche, dem Standpunkt *Bingels* entsprechend, dem Leerserum bei der Diphtheriebehandlung eine hervorragende Rolle zugewiesen, ohne jedoch behaupten zu wollen, daß die Wirkung desselben eine antitoxische ist. Zweifellos kann sie das auch nicht sein, aber solange wir über die Auswirkung des Diphtheriegiftes auf die Funktionen des Organismus spez. auf den hormonalen Apparat und auf die Aufrechterhaltung der für den Ablauf der vitalen Zellfunktionen nötigen Reduktions-Oxydationspotentiale nicht genaue Kenntnisse haben, muß die Frage offen bleiben, ob nicht eine parenterale Seruminjektion imstande ist, auf eine im serologischen Sinne unspezifische Weise in den Mechanismus der Zellfunktionen einzugreifen, und somit auch Wirkungen entgegenzuarbeiten, die mittelbar durch das Toxin hervorgerufen sind. Antitoxisch könnte man daher eine solche Wirkung des Leerserums nur in übertragenem Sinne nennen. Im Tierexperiment läßt sich eine therapeutische Normalserumwirkung, die nicht antitoxisch in eigentlichem Sinne ist, nicht nachweisen. So haben auch *F. v. Bormann* und *O. Scheurer* (Zeitschr. f. Kinderheilk. 1/33, 55, 73) bei mit Diphtheriebazillen konjunktival infizierten Meerschweinchen festgestellt, „daß das spezifische Diphtherieserum sich sowohl bei der

Behebung der tödlichen Intoxikation wie bei der Heilung des lokalen Krankheitsprozesses dem Leerserum bei weitem überlegen erweist.

Andererseits kann auch das Leerserum bei leichteren Infektionen eine nicht unbeträchtliche, ebenfalls lebensrettende therapeutische Wirkung enthalten. Im Gegensatz zu dem spezifischen Serum reichte jedoch diese Wirksamkeit innerhalb der Versuchsbedingungen nicht aus, um das erkrankte Auge vor dem Untergang zu schützen.

Bei der Behandlung des diphtheriekranken Menschen kommt nach wie vor nur das antitoxinhaltige Serum in Frage. Die alleinige Anwendung des Leerserums hat in der Praxis zu unterbleiben."

III. Ist bei den Heilseren, die durch Injektion lebender Diphtheriebazillen erhalten wurden, die also Antitoxin und vielleicht antibakterielle Immunstoffe enthalten, eine stärkere Wirkung festzustellen als bei rein antitoxischen Seren mit dem gleichen Antitoxingehalt?

Gerade der Umstand, daß das Antitoxin nicht immer bei der malignen Diphtherie, auch bei frühzeitiger Anwendung in sehr großen Dosen, wirksam ist, läßt es wichtig erscheinen, die Wirksamkeit solcher Diphtheriesera zu untersuchen, die neben dem Antitoxin im höheren Maße auch antibakterielle Antikörper enthalten, als es bei den Seren, die durch Immunisierung von Pferden mit reiner Diphtherietoxinbouillon erhalten worden sind, erwartet werden kann. Die Berechtigung zu solchen Untersuchungen, durch die ja gewissermaßen die alleinige Bedeutung des Toxins für die Diphtherie in Frage gezogen wird, geben neuere Erfahrungen und Beobachtungen über die Pathogenität der Diphtheriebazillen und über die Bakteriämie. Danach scheint die alte Auffassung von *Roux* und *Martin* bestätigt zu werden, daß die Diphtheriebazillen eine doppelte Wirkung im Kranken ausüben: 1. durch ihr lösliches Toxin, die Toxizität, und 2. durch ihre Virulenz, d. h. die Vermehrungsfähigkeit im Organismus. So wurden in erster Linie von *Kolle* und *Schloßberger*, aber auch von anderen die großen Virulenzunterschiede verschiedener Diphtheriebazillenstämme festgestellt. Untersuchungen darüber ergaben, wie schon früher öfters nachgewiesen worden war, daß der Grad der Virulenz in keiner direkten Beziehung steht zu der Fähigkeit der Stämme, Gift

in Bouillonkulturen zu bilden, ja, daß oft hochvirulente Diphtheriebazillen schlechte Toxinerzeuger sind *(Belfanti)*. Auch gestattet die Prüfung der Virulenz am Meerschweinchen keinesfalls einen Rückschluß auf die Virulenz des Diphtheriestammes für Menschen *(Gundel)*. Diese Tatsache erschwert die Beurteilung der Diphtheriebazillenstämme auf ihre Virulenz und Toxizität für den Menschen nach den experimentellen Ergebnissen außerordentlich.

Neuerdings haben *Feierabend* und *Schubert* durch Experimente mit Stämmen von maligner Diphtherie diese Fragen eingehend erörtert. Sie fanden im Laufe ihrer Untersuchungen Diphtheriebazillenstämme heraus, die bei intrakutaner Prüfung an Meerscweinchen nach *Römer-Gins* das Versuchstier nicht töteten, wie es andere Stämme häufig tun, sondern nur eine lokale Reaktion an der Injektionsstelle hervorriefen. Diese lokale Reaktion konnte durch Antitoxingaben, die bei anderen Stämmen für den negativen Ausfall der lokalen Reaktion vollauf genügten, nicht beeinflußt werden. Durch Altern des betreffenden Stammes oder durch starke Steigerung der Antitoxinmenge konnte ein den gewöhnlichen Diphtheriebazillenstämmen entsprechender negativer Befund erreicht werden. Diese Eigenschaft gewisser Stämme wird von den Autoren als Funktion ihrer Virulenz, nicht der Toxigenität betrachtet und konnte künstlich gesteigert werden. Auch andere Diphtheriebazillenstämme konnten durch Passagen so virulent werden, daß sie diese Eigenschaft annahmen. Auf Grund ausgedehnter Versuche mit Stämmen von maligner Diphtherie, die sich durch eine ungewöhnliche, durch hohe bakterielle Virulenz bedingte Pathogenität auszeichneten, kommen die Autoren zu dem Schluß, daß das Resultat der Injektion von Diphtheriebazillen in erster Linie von der Virulenz des Erregers und in zweiter Linie von der Toxigenität abhängig ist. Sie nehmen an, daß zwar dem Toxinfaktor die zum Tode führende Wirkung zukommt, daß aber zur Intoxikation eine ausreichend große Menge von Di.-Bazillen nötig ist, die von der Virulenz des betreffenden Stammes abhängt. Als Folgerungen stellen *Feierabend* und *Schubert* die Forderung auf, gegen die Diphtherie nicht nur ein antitoxisches, sondern auch ein bakterielles Serum

zu erzeugen, das direkt die Virulenz des Stammes anzugehen imstande ist.

Auch französische Autoren *(Debré, Ramon, Thiroloix)* kommen zu ähnlichen Ergebnissen. Sie fanden eine Parallelität zwischen Pathogenität und Schwere der Erkrankung, mit der die Toxinbildungsfähigkeit in vitro weniger gut übereinstimmte. Doch wies ein Serum, das sie sich mit den biologisch giftigsten Stämmen herstellten, auch wenn es in sehr großen Mengen injiziert wurde, keine besseren Erfolge auf. (Die Wirksamkeit solcher Seren wird später noch in anderem Zusammenhang erörtert werden.)

Neben dem Virulenzfaktor, der vielleicht bisher in seiner Bedeutung für den Verlauf der Diphtherieerkrankung unterschätzt worden ist, wird den Untersuchungen über die Bakteriämie bei der Diphtherie eine erhöhte Aufmerksamkeit zugewendet werden müssen. Die Fähigkeit gewisser Diphtheriebazillenstämme, in den Organismus einzudringen und eine Bakteriämie herbeizuführen *(Simić)*, ist sicher eine Funktion der Virulenz und kann wohl mit der Schwere der Erkrankung in Beziehung gebracht werden. Schon von vielen Untersuchern sind postmortal Diphtheriebazillen im Herzblut und in den verschiedenen Organen gefunden worden, ihr Vorhandensein wurde aber teilweise auf stattgefundene Operationen, besonders von Tracheotomien, zurückgeführt *(Plange, Schmitz)*. So gibt *Roedelius* an, daß der Befund von Diphtheriebazillen im strömenden Blut zu den größten Seltenheiten gehört und nicht zum Tode zu führen braucht. Dagegen hat *I. Liebermann* schon 2 Stunden nach subkutaner und intraperitonealer Injektion von lebenden Kulturen Diphtheriebazillen im Blut und in Organen nachgewiesen, und nach *Simićs* Untersuchungen scheint es festzustehen, daß Diphtheriebazillen von besonders virulenten Stämmen auch in vivo in die Blutbahn und in die Organe eindringen können. Doch scheint dazu neben der Virulenz eine gewisse Disposition des betroffenen Organismus nötig zu sein. Es liegt nahe, diese individuelle Disposition, die nicht auf einer besonders hohen Empfindlichkeit für das Diphtherietoxin beruht, auf den Mangel an antibakteriellen

Immunkörpern zurückzuführen. Wenn auch dem Diphtheriebazillus die Fähigkeit der septischen Propagation *(Simić)* fehlt und die Bedeutung der Bakteriämie nicht in diesem Sinne gedeutet werden kann, so erscheint es trotzdem nicht ausgeschlossen, daß die virulenten Diphtheriebazillen auf ihrem Weg im Körper ihre toxische Komponente zu einer besseren Auswirkung bringen und damit eine stärkere Schädigung des Organismus verursachen können, als wenn sie nur am Infektionsort Gift produzieren. So steht z. B. *Lignières*, vielleicht aus diesem Grunde, auf dem Standpunkt, daß die Diphtheriebazillen soweit im Organismus eingedrungen sein können, daß man ihnen mit einem bakteriziden Serum entgegentreten muß.

Die Möglichkeit besteht demnach, zum Nachweis der infektiösen Bedeutung der Diphtheriebazillen den Einfluß antibakterieller Sera auf die Bazillen festzustellen, in der Annahme, daß, bei einer den Körper schädigenden Wirkung der Diphtheriebazillen selbst, der Organismus entsprechend anderen bakteriellen Infektionen auch antibakterielle Antikörper neben dem Antitoxin bildet. Die passive Zuführung solcher antibakteriellen Immunkörper müßte dann theoretisch folgerichtig im infizierten Organismus eine gewisse Heil- oder Schutzwirkung entfalten.

Die Eigenschaften und Wirkungen der Diphtherie-Immunsera sind in hohem Maße von ihrer Herstellungsweise abhängig. Es ist nicht angängig, Immunsera, die nach Immunisierung mit lebenden Diphtherie-Bazillen erhalten wurden, mit solchen, bei denen abgetötete Kulturen als Impfmaterial verwendet wurden, zu vergleichen, da die Sera, besonders in ihrem Antitoxingehalt, große Unterschiede je nach der Herstellungsart aufweisen. Es soll deswegen zunächst die erstere Art der Sera, die neben einem gewissen Antitoxingehalt antibakterielle Antikörper enthalten, in Bezug auf ihre Eigenschaften und Wirkungen einer Betrachtung unterzogen werden.

Auch hier liegen die ersten Versuche mit solchen Seren weit zurück. Unter anderem berichtete *Bandi* (1903) über die Herstellung und Wirkungen antibakterieller Diphtheriesera auf Tier und Mensch. Da ihm die Empfindlichkeit von Pferden gegen subkutane Injektionen von größeren Diphtheriebazillenmengen bekannt war, immunisierte

er Ziegen mit sensibilisierten Diphtheriebazillen. Das gewonnene Serum wies eine sehr schwache antitoxische Wirkung auf und hatte in vitro keinen bakteriziden Einfluß auf Diphtheriebazillen, war aber bei Gegenwart von Leukocyten deutlich bakterizid. Demnach war die opsonische Fähigkeit (Tropinwirkung ?) in hohem Maße vorhanden. Bei Heilversuchen an Menschen stellte *Bandi* fest, daß nach Injektion von wenigen ccm die Loslösung und Ausstoßung der Membranen rascher vonstatten ging als bei antitoxischem Serum. Diese Beobachtung spricht dafür, daß der Opsoningehalt eines solchen Serums noch höher ist als der des antitoxischen Serums und daß die Opsonine einen spezifischen Einfluß auf die Diphtheriebazillen selbst ausüben. Denn nach *Scirmai* (1932) beruht die Pseudomembranbildung nicht auf derselben Toxinwirkung wie die Schädigung des Herzens, der Nieren oder des Nervensystems, sondern auf einer direkten bakteriellen Fähigkeit der Diphtheriebazillen; so ist auch eine Reproduktion der Pseudomembran im Tierversuch mit Toxin nicht möglich, wohl aber mit Diphtheriebazillen, z. B. bei Kaninchen.

Zu ähnlichen Untersuchungsergebnissen sind *Klein* und *van de Velde* gekommen. Der letztere hat, ebenso wie *Bandi*, Ziegen mit lebenden Diphtheriebazillen immunisiert und ein gegen die Diphtherieinfektion heilkräftiges Serum erhalten, während *Klein* Meerschweinchen von der Bauchhöhle aus mit lebenden Diphtheriebazillen immunisiert hat. Er war zu den intraperitonealen Injektionen übergegangen auf die Beobachtung hin, daß die Tiere bei dieser Art der Applikation viel größere Mengen von Diphtheriebazillen vertrugen als bei subkutaner Infektion; er führte diese Erscheinung, die später immer wieder bestätigt worden ist, darauf zurück, daß die Bazillen in der Bauchhöhle sehr schnell zerstört werden und nur geringe Toxinmengen noch zu produzieren imstande sind. Sein Serum schützte in einer Menge von 0,25 ccm gegen eine sicher tödliche Dosis.

Auch *Lipstein* immunisierte Meerschweinchen mit lebenden Diphtheriebazillen und machte dabei die Beobachtung, daß nur bei Verwendung von virulenten Stämmen die Immunisierung gelingt. Er machte die gleiche Feststellung wie *Klein*, daß man bei intraperitonealer Infektion das 4—6fache der Diphtheriebazillendosis benötigte als bei subkutaner Injektion. Doch glaubt er nicht, daß dieser Unterschied auf der bakteriziden Fähigkeit des Peritonealexsudates beruht, das sich in seinen Untersuchungen in vivo und in vitro als völlig unwirksam herausgestellt hat. Mit seinem Meerschweinchen-Immunserum konnte er Diphtheriebazillen noch in einer Serumverdünnung von 1 : 1000 agglutinieren. Er konnte aber weder in vitro einen bakteriziden Effekt noch im Tierversuch eine Beeinflussung der Diphtherie erzielen.

Besonders viel Erfahrungen sind in Frankreich mit den vom *Institut Pasteur* gelieferten antitoxisch-antibakteriellen Diphtheriesera gemacht worden, doch gehen bei den französischen Klinikern die Meinungen über den Wert dieser Sera recht weit auseinander. Zwar können Beobachtungen, wie die von *Marfan*, der mit antitoxisch-antibakteriellen Seren von gleicher „pouvoir préventif", aber mit sehr verschiedenem Antitoxingehalt (75

und 200 AE im ccm) bei einer großen Anzahl von Fällen dieselben Heilerfolge erzielte, für die Bedeutung der antibakteriellen Komponente sprechen; aber *Marfan* schreibt selbst, daß diesen Erfahrungen erst dann eine gewisse Beweiskraft zukommt, wenn sie in Fällen von maligner Diphtherie bestätigt worden sind.

Auch der Einfluß dieser antitoxisch-antibakteriellen Diphtheriesera auf das Verschwinden der Diphtheriebazillen beim Bazillenträger steht nicht fest. Während französische Autoren *(Roskam u. a.)* mit einem solchen Serum in Puder- oder Pastillenform gute Erfolge sahen — im Durchschnitt waren die Keimträger nach 18,3 Tagen keimfrei — hat *Kretschmer* keine besonders guten Erfahrungen mit solchem Serum bei lokaler Anwendung gemacht. *Kleinschmidt*, der dieses französische Serum nach *Roux*, das als Zitratplasma gewonnen wurde, vergleichend mit deutschem antitoxischem Serum von gleichem Antitoxingehalt und dem konzentrierten gereinigten Serum von *Ruppel*, das eigentlich kein Serum mehr, sondern auf elektroosmotischem Wege gewonnene, reine antitoxinhaltige Pseudoglobulinlösung ist, in seiner Wirksamkeit auf die menschliche Diphtherie untersuchte, fand keine deutlichen Unterschiede in dem Heileffekt. Auf jeden Fall hatte das französische Serum keinen besonderen Einfluß auf das Schwinden der Diphtheriebazillen und übertraf keineswegs das gereinigte, antitoxische Serum *Ruppels* an Heilkraft.

Diese Ergebnisse werden von *Kolle* und *Schloßberger* bestätigt. Ihre Versuche mit Diphtherieserum von Pferden, die nur mit lebenden Diphtheriebazillen immunisiert worden waren, ergaben, daß die Schutz- und Heilkraft des Serums gegenüber den mit lebenden Diphtheriebazillen infizierten oder mit Diphtherietoxin vergifteten Meerschweinchen nur dem Antitoxingehalt parallel ging.

Auch französische Forscher *(Legroux, Ramon, Debré, Thiroloix)* kamen zu demselben Ergebnis. Sie hatten zur Immunisierung frische Diphtheriebazillenstämme der bestehenden Epidemien, die sich als höchst pathogen herausgestellt hatten,

benutzt und ein Serum erhalten, das einen Antitoxingehalt von 35—55 AE im ccm aufwies. Die Wirksamkeit dieses Serums auf die experimentelle Diphtherieinfektion und -Intoxikation entsprach bei diesem Vorgehen nur dem Antitoxingehalt.

In diesem Zusammenhang müssen noch kurz die Erfahrungen erwähnt werden, die mit Symbioseserum und mit Rekonvaleszentenserum bei der Diphtherie gemacht worden sind. Wenn auch das erstere in erster Linie gegen Mischinfektionen mit Streptokokken gerichtet ist und in ihm bakterizide Antikörper gegen Streptokokken vorhanden sein sollen, so ist es nach Art seiner Herstellung mit Di.-Kulturen und -Gift auch ein antitoxisch-antibakterielles Diphtherieserum, das angeblich bakterizide Stoffe gegen Diphtheriebazillen enthält *(Becker)*. Der theoretisch wohl begründeten Anwendung entsprechen aber nicht die praktischen Erfolge. Wohl haben einige Kliniker *(Bormann, Grabenhofer, Medem usw.)* über günstige Ergebnisse berichtet, die besonders in einem schnelleren Schwinden der Beläge bestanden haben als es bei antitoxischem Serum der Fall war, doch ist die Mehrzahl der Kliniker von der besonderen Wirkungsfähigkeit eines solchen Serums nicht überzeugt. Es leistet meist nicht mehr als das antitoxische Serum von gleicher Wertigkeit *(Friedemann, Scirmai)*, und auch *Hottinger* hatte mit ihm bei maligner Diphtherie keine Erfolge.

Das Rekonvaleszentenserum (s. S. 23) von Menschen, das, wie man annehmen muß, neben einem gewissen Antitoxingehalt auch gegen die Diphtheriebazillen selbst eingestellte Antikörper möglicherweise enthält, hat die Hoffnungen, die man seit *Hentschels* Veröffentlichung in seine Wirksamkeit gesetzt hatte, enttäuscht. Die Vermutung, daß es als arteigenes Serum besser in die Zellen eindringen und bereits gebundenes Toxin noch neutralisieren könne, hat sich nicht erfüllt. Doch sind die Ergebnisse mit diesem Serum aus den auf Seite 22 bis 23 angeführten Gründen nicht ohne weiteres zu verwerten.

Im Gegensatz zu den Angaben über die Wirkung antitoxisch-antibakterieller Sera stehen die interessanten Beobachtungen, die Belgrader Forscher *(Ivanić, Dimitrijevic-Speth, Jovanovic)* an Kruppstämmen von maligner Diphtherie gemacht haben. Ein Serum, das sie durch Immunisierung eines Kaninchens mit durch Formol getöteten und später lebenden Kulturen eines solchen Stammes erhalten hatten, wurde von ihnen auf seine Eigenschaften in vitro und in vivo geprüft. Es agglutinierte den homologen Stamm grob bis 1:3000, fein bis 1:12 000, es hatte keine bakteriziden und wachstumshemmenden Sub-

stanzen gegen denselben Stamm und besaß nur einen geringen Antitoxingehalt von 1:5—1:3 AE in 1 ccm. Trotz des Fehlens bakterizider Eigenschaften bewirkte das Serum im Tierversuch gegenüber dem homologen Stamm eine Lebensverlängerung, bei der Applikation von 0,5—1,0 ccm ein Ausbleiben aller Krankheitserscheinungen. Dagegen war es gegenüber Nicht-Kruppstämmen wirkungslos. Die Autoren nehmen an, daß das Serum das Einschwärmen der Diphtheriebazillen in den Körper und ihre weitere Verbreitung in demselben verhindert. Sie sprechen also damit der Bakteriämie eine besondere, den Krankheitsverlauf bestimmende Bedeutung zu (da eine Verhinderung der Bakteriämie durch ein solches Serum eine Heilung herbeiführen soll). Aus diesem Verhalten und dieser Wirkung des Serums können verschiedene Schlüsse gezogen werden. Einmal bestätigten sie die Tatsache, daß sich Diphtheriestämme, die im Menschen eine maligne Diphtherie hervorgerufen haben, völlig verschieden von gewöhnlichen Diphtheriestämmen verhalten können *(Feierabend)*, wenn sie frisch isoliert zu Versuchszwecken verwendet werden; andererseits ergeben sie, leider in nur einem Falle, daß man mit einem vorwiegend antibakteriellen Diphtherieserum doch einen deutlichen Heileffekt erzielen kann, der nicht dem Antitoxingehalt zuzuschreiben ist.

Um die verschiedenen Ergebnisse mit antitoxisch-antibakteriellen Diphtheriesera zu erklären und eine Beurteilung zu ermöglichen, ist folgendes noch vorauszuschicken:

Da die Sera sämtlich durch Immunisierung mit lebenden Diphtheriebazillen hergestellt worden sind, enthalten sie, wenn es auch nicht immer ausdrücklich angegeben worden ist, einen Antitoxingehalt, der eine korrekte Beurteilung in rein antibakterieller Hinsicht nicht zuläßt. Auch die vergleichenden Untersuchungen, die ergeben haben, daß die Wirkung des Serums nur dem Antitoxingehalt entspricht, können nicht voll beweisend für die Wertlosigkeit antibakterieller Faktoren sein. Wie schon oben gesagt, ist es möglich, daß das Antitoxin bei passiver Zuführung die Bildung körpereigener Antikörper

hemmen kann und durch Paralysierung des Giftes andere Faktoren nicht mehr zur Auswirkung kommen läßt.

Auch scheinen gewissen, frisch isolierten, malignen Diphtheriestämmen Eigenschaften innezuwohnen, die sie durch Altern oder mehrfaches Überimpfen verlieren und die sich auch in den mit ihnen hergestellten Sera, vielleicht in Form einer besonderen Art von Antikörpern, bemerkbar machen. Zur Prüfung der rein antibakteriellen Rolle des Heilserums bei Diphtherie ist es daher nötig, solche Sera bei Verwendung von malignen Diphtheriestämmen möglichst antitoxinfrei herzustellen und ihre Wirksamkeit in vitro und in vivo auf dieselben Stämme zu untersuchen.

Auch hier müssen wir zunächst kurz auf frühere Arbeiten verweisen, die von Untersuchungen mit Immunserum berichten, das nach Art seiner Herstellung mit abgetöteten Diphtheriebazillen praktisch kein Antitoxin enthalten hat. So haben u. a. *Louis Martin, Bandi, Wassermann, van Riemstijk, Tunnicliff, Landsteiner, Nicolle, Emieleff* durch Injektionen abgetöteter Diphtheriebazillen Sera erhalten, die zwar teils präzipitierende oder starke opsonische Fähigkeiten hatten, oder eine gewisse Agglutinationskraft besaßen, die aber eingehender auf ihre Wirksamkeit in vitro und in vivo nicht untersucht worden sind. Letzteres ist aber zur Beurteilung etwaiger Wirksamkeit solcher Sera bei der Diphtherie unbedingt nötig, und hier setzten meine eigenen Versuche ein.

IV. Haben Immunsera, die durch Injektion von abgetöteten, von Toxin möglichst befreiten Diphtheriebazillen hergestellt worden sind, also kein Antitoxin, dagegen antibakterielle Antikörper enthalten, eine Heilwirkung auf die experimentelle Diphtherieerkrankung?

Um antibakterielle, aber antitoxinfreie Sera zu erhalten, wurden Kaninchen immunisiert, die bekanntlich gegen Diphtherieinfektion und -Intoxikation hochgradig empfindlich sind (in noch stärkerem Maße als Meerschweinchen). Als Impfmaterial

dienten 24stündige Löfflerserumkulturen von den Diphtheriebazillenstämmen Breslau 10440, Breslau 12020, Mandelbaum Ettinger und Park-William VIII. Die ersten beiden Stämme sind hochvirulent und stammen von Kranken, die an maligner Diphtherie zugrunde gegangen sind. Der Stamm Mandelbaum Ettinger ist weniger virulent, bildet aber in vitro, wenn auch nur geringgradig, Toxin, während der Stamm Park William VIII praktisch avirulent, aber bekanntlich in vitro ein guter Toxinbildner ist. Mit Absicht wurden diese in ihrer Virulenz und Toxizität so verschiedenen Stämme zur Immunisierung benutzt, da sich auf Grund ihrer biologischen Verschiedenheiten auch solche der betreffenden homologen Immunsera möglicherweise ergeben konnten. Daneben wäre es möglich gewesen, durch Mischung der Immunsera ein stärker polyvalentes Immunserum zu erhalten.

Bei der gewebsbiologischen Prüfung dieser Diphtheriebazillenstämme, bei der 0,5 ccm einer Diphtheriebazillenaufschwemmung — 8,0 ccm 0,85 % Kochsalzaufschwemmung auf ein Löfflerserumröhrchen einer 24 Stunden alten Kultur — einem Meerschweinchen intrakutan injiziert wurde, gingen die Versuchstiere am 2. Tag nach der Injektion ein und zeigten bei der Sektion die typischen Erscheinungen der Diphtherieinfektion, die ja denen der Diphtherievergiftung völlig gleichen: Subkutanes hämorrhagisches Infiltrat, Pleuraexsudat, Vergrößerung und Rötung der Nebennieren. Auch die Tiere, die nur 0,2 ccm einer solchen Aufschwemmung intrakutan erhalten hatten, starben am 2. Tag nach der Injektion. An den Injektionsstellen waren bei diesen Tieren starke Hyperämie und Infiltration aufgetreten, Nekrosen hatten sich noch nicht entwickeln können. Wie *Feierabend* erwähnt, ist der tödliche Ausgang bei intrakutanen Injektionen keineswegs gewöhnlich und tritt besonders bei Stämmen von maligner Diphtherie ein.

Bei der Prüfung am Kaninchen, dem je 0,1 ccm der Aufschwemmungen der verschiedenen Stämme intrakutan injiziert worden war, erwies sich der Stamm 12020 als derjenige, der die ausgedehnteste Nekrose verursachte; die Nekrosen stießen sich nach einigen Tagen ab, und das Tier blieb am Leben.

Das Impfmaterial wurde nach Art einer Vaccine hergestellt. 24 Stunden alte Diphtheriebazillenkulturen, die auf Löfflerserumnährboden gewachsen waren, wurden ösenweise an der Innenwand eines Reagensglases verrieben und mit 0,85% Kochsalzlösung abgeschwemmt, bis eine dichte Aufschwemmung entstanden war. Diese wurde eine Stunde lang im Wasserbad bei 60—65° erhitzt und dann mehrmals sorgfältig gewaschen, um alles den abgetöteten Diphtheriebazillen anhaftende Gift zu entfernen. Die Vaccine wurde jedesmal vor der Injektion frisch hergestellt. Sterilitätsproben, die hin und wieder angestellt wurden, blieben keimfrei.

Von diesem Impfstoff erhielten die Kaninchen das erstemal 1 ccm intravenös und dann im Abstand von je 5—6 Tagen steigende Mengen bis 4,0 ccm intravenös. Es wurden zunächst 8 Kaninchen auf diese Weise immunisiert, von denen je 2 die Vaccine desselben Stammes während der ganzen Immunisierungsperiode erhielten.

Doch wurde bei einem Teil der Tiere die Injektion abwechselnd intravenös und intraperitoneal vorgenommen, wobei bei der letzten Applikationsweise steigende Mengen bis 8,0 ccm einverleibt wurden. Außerdem wurde ein Kaninchen mit einer durch Kochen von Diphtheriebazillen in leicht alkalischer NaCl-Lösung erhaltenen Diphtheriebazilleneiweißlösung immunisiert. Diesem Tiere sind von Anfang an 18—20 ccm intraperitoneal und 3—4 ccm intravenös injiziert worden, ohne daß sich ein ungünstiger Einfluß dieser großen Injektionsmenge auf das Tier bemerkbar machte. Auch die anderen Kaninchen haben die Immunisierung gut überstanden und nicht an Gewicht verloren.

Nach 2—4 Wochen wurden die Sera zum erstenmal auf ihre Agglutinationsfähigkeit geprüft und einige Wochen später ihr Gehalt an Agglutinin, Antitoxin, Präzipitin, komplementbindenden Antikörpern und Bakteriolysinen festgestellt.

Agglutinationsfähigkeit der Kaninchensera.

5 Tage nach der 3. Injektion des Impfstoffes, ungefähr 14 Tage nach Beginn der Immunisierung, wurde den Kaninchen 90 und 35, 92 und 871, 91 und 36, 89 und 20 Blut aus den Ohrvenen entnommen, und das Serum auf seine Agglutinationsfähigkeit untersucht. Als Antigen dienten Aufschwemmungen von lebenden Diphtheriebazillen in 0,85% Kochsalzlösung. Auch für die weiteren Agglutinationsversuche wurde das Antigen jedesmal frisch hergestellt, und zwar von höchstens 20 Stunden alten Löfflerserumkulturen, da ältere Antigene ebenso wie ältere Kulturen oft eine stärkere Spontanagglutination zeigten. Im allgemeinen war bei diesem Vorgehen die Spontanagglutination nicht so stark, daß dadurch ein Ablesen des

Agglutinationsversuchs unmöglich gemacht wurde, besonders dann nicht, wenn sich die gröberen Bestandteile der Aufschwemmung zu Boden gesetzt hatten und nur die überstehende Flüssigkeit als Antigen verwandt wurde.

Die Sera der genannten Kaninchen agglutinierten bei dieser ersten Prüfung die Diphtheriebazillen des homologen Stammes noch in einer Verdünnung von 1:100 bis 1:200 (siehe Tab. 4).

Tabelle 4

Immun-Kan.-Serum	Zeit nach Beginn der Immunisg.	Antigen	1 25	1/50	1 100	1 200	1/400	1 800	1 1600	1/3200
90	14 Tagen	homolog.	###	###	###	###	###	—	—	—
	4 Wochen	homolog.	###	###	###	###	###	###	—	—
	4 Wochen	heterolog.	###	###	###	###	###	—	—	—
35	14 Tagen	homolog.	###	###	###	###	###			—
	4 Wochen	homolog.	###	###	###	###	###	###	—	—
92	4 Wochen	homolog.	###	###	###	###	###	###	###	###
	4 Wochen	heterolog.	###	###	###	—		—	—	—
871	14 Tagen	homolog.	###	###	###	###	###	###	—	—
	4 Wochen	homolog.	###	###	###	###	###	###	—	—
91	14 Tagen	homolog.	###	###	###	###	—	—	—	—
	4 Wochen	homolog.	###	###	###	###	###	###	—	—
	4 Wochen	heterolog.	###	###	###	###	###	—	—	—
36	4 Wochen	homolog.	###	###	###	###	###	###	—	—
89	14 Tagen	homolog.	###	###	###	—	—	—	—	—
	4 Wochen	homolog.	###	###	###	###	###	###	—	—
20	14 Tagen	homolog.	###	###	###	###	###	—	—	—
	4 Wochen	homolog.	###	###	###	###	—	—	—	—
110	4 Wochen	homolog.	###	###	###	###	###	###	###	###
	4 Wochen	heterolog.	###	###	###	###	###	###	###	—
111	4 Wochen	homolog.	###	###	###	###	###	###	###	—
112	4 Wochen	homolog.	###	###	###	###	###	###	###	###
109	4 Wochen	gemischt	—	—	—	—	—	—	—	—
227	5 Wochen	homolog.	###	###	###	—		—	-	—
	5 Wochen	heterolog.	###	###	###	—	—	—	—	—
228	5 Wochen	homolog.	###	###	###	###	###	###	###	—
	5 Wochen	heterolog.	###	###	###	###	###	###	###	—
229	5 Wochen	homolog.	###	###	###	###	###	—	—	—
230	5 Wochen	homolog.	###	###	###	###	###	###	###	—
	5 Wochen	heterolog.	###	###	###	###	###	—	—	—
Norm.-Kan.-Ser.	5 Wochen	gemischt	###	-			—	—		—
Antitox.-Kan.-Ser. 10fach	5 Wochen	gemischt	###	—	--	—	—	—	-	—
Norm.-Kan.-Ser.	5 Wochen	gemischt	—	—	-	—	—		—	—

Bei einer 2 Wochen später vorgenommenen Untersuchung war der Agglutinationstiter auf durchschnittlich 1:400 bis 1:800 gegenüber den homologen, auf 1:100 bis 1:200 gegenüber den heterologen Antigenen, d. h. Antigenen, die mit einem, von dem zur Immunisierung des Tieres benutzten, verschiedenen Diphtheriebazillenstamm hergestellt worden waren, gestiegen. Auf dieser Höhe hielten sich die Sera auch bei späteren Prüfungen.

Die Sera von den Kaninchen 110, 111, 112, 228, 227, 229, 230, bei denen mit der Immunisierung später begonnen worden war, verhielten sich in Bezug auf ihre Agglutinationsfähigkeit nach ungefähr 4 Wochen ähnlich. Bei einigen ging der Agglutinationstiter bis 1:1600 gegenüber den homologen Stämmen, während er heterologen Stämmen gegenüber nur 1:100 bis 1:200 betrug.

Ein deutlicher Unterschied zwischen den Seren, der zum Teil auf die verschiedenen Eigenschaften der verwendeten Diphtheriestämme, z. T. auch auf die individuelle Reaktionsfähigkeit des betreffenden Kaninchens hätte zurückgeführt werden müssen, war nicht festzustellen. Allein das Serum des Kaninchens 109, das mit dem Diphtheriebazillenkochextrakt immunisiert worden war, ließ eine Agglutinationsfähigkeit einem aus verschiedenen Stämmen gemischten Antigen gegenüber vermissen. Ebenso vermochte normales Kaninchenserum die Diphtheriebazillen verschiedener Stämme nicht oder nur in sehr geringem Grade zu agglutinieren. Auch ein schwach antitoxisches Kaninchenserum, das nach Injektion von reinem Diphtherietoxin erhalten worden war, besaß kein nennenswertes Agglutinationsvermögen.

Antitoxingehalt.

Nach einer Immunisierungszeit von 4 Wochen wurden die erst genannten Kaninchensera auf ihren Antitoxingehalt untersucht. Die Auswertung wurde nach der Römerschen Intrakutanmethode am Meerschweinchen ausgeführt. Als Testgift diente das TL der Behringwerke, als Kontrolle ein Diphtherietestserum.

Es ergab sich bei der Auswertung, daß die Kaninchensera einen sehr geringen Antitoxingehalt von ungefähr 1:100 bis 1:200 AE in 1 ccm hatten. Zwar konnte bei der Auswertung von normalem Kaninchenserum auch ein ganz geringer Antitoxingehalt, 1:500 AE in 1 ccm, festgestellt werden, doch ist zweifellos eine Erhöhung des Antitoxingehaltes eingetreten, die wohl darauf zurückzuführen ist, daß das mehrmalige Waschen die Diphtheriebazillen nicht völlig von dem anhaftenden Toxin befreit hat, oder daß in den Bazillenleibern geringe Spuren von Toxin enthalten sind. Da auch in dem Serum 109 ein Antitoxingehalt von 1:200 AE nachzuweisen war, ist die letztere Annahme wohl wahrscheinlicher. Doch ist das Anwachsen des Antitoxins auch damit nicht geklärt, da ja das Antigen auf 60—65° erhitzt und damit das Toxin zerstört worden ist, und auch eine Endotoxinwirkung wegen der Erhitzung sehr zweifelhaft ist.

Was die Frage der Endotoxinbildung bei Diphtheriebazillen betrifft, so haben die Untersuchungen von *I. Hirsch* bewiesen, daß selbst aus gründlich gewaschenen, mit Chloroform extrahierten und getrockneten Diphtheriebazillen sich typisches Diphtheriegift gewinnen läßt, und ebenso hat *Prigge* (1932) gezeigt, daß das Diphtheriegift nicht aus Substraten des Nährmediums entsteht, sondern nur aus den Bazillen selbst.

Komplementbindende Antikörper.

Der Nachweis von komplementbindenden Antikörpern in Diphtherie-Heilseren ist nach den Angaben von *Witebsky* und *Krah* (1930) von besonderem Wert. Von ihnen wurde festgestellt, daß durch Vorbehandlung von Kaninchen mit Diphtheriebazillen Antikörper gegen alkohollösliche Bakterienbestandteile erzeugt werden, die mit der Komplementbindungsreaktion nachgewiesen werden können. Dabei soll der Komplementbindungseffekt mit der Wertigkeit der Diphtheriesera ansteigen und die sogenannte „Lipoidantikörperquote“ einen Maßstab für den Immunisierungseffekt abgeben.

Die Untersuchung auf komplementbindende Antikörper der Kaninchensera wurde weitgehend dem Vorgehen und der Versuchsanordnung der genannten Autoren angepaßt.

Der Extrakt wurde aus 1 g getrockneter Diphtheriebazillen hergestellt, dem 100 ccm 96%iger Alkohol zugefügt wurden. Diese Mischung wurde 4 Tage lang bei Zimmertemperatur extrahiert und dann filtriert. Die starke Eigenhemmung des Extraktes konnte in den Versuchen durch Zufügung von 1,0 ccm 1%igen Lecithins zu 9,0 ccm Extrakt ausgeschaltet werden.

Die Ergebnisse der Untersuchungen zeigt die Tabelle 5. Es wurden in dem ersten Versuch die Extraktmengen variiert, wobei festgestellt wurde, daß die Kaninchenimmunsera in einer Menge von 0,25 ccm 1:10 verdünnten Serums — also 0,025 ccm Serum in Wirklichkeit — das Komplement des hämolytischen Systems bis zu einer Extraktmenge von 0,002 bzw. 0,001 banden, also starke Hemmung hervorriefen. Dagegen verursachten normales Kaninchenserum, antitoxisches Pferdeserum und normales Pferdeserum nur bis zu einer Extraktmenge von 0,05 eine deutliche Hemmung der Hämolyse.

In einem zweiten Versuche wurden bei gleichbleibenden Extraktmengen (0,25 ccm) die Serummengen variiert, und zwar wurden dem hämolytischen System und dem Extrakt Serummengen von 0,025 bis 0,001 ccm zugegeben. Bei dieser Versuchsanordnung hemmte das Serum 89 bis 0,002 ccm die Hämolyse, Serum 91 bis 0,0025, Serum 92 bis 0,005 und Serum 90 bis 0,01. Normales Kaninchenserum hatte bis zu einer Serummenge von 0,02 ccm Hemmung zur Folge, während normales Pferdeserum, antitoxisches Pferdeserum und antitoxisches Kaninchenserum auch bei der größten Serummenge (0,025 ccm) noch keine Hemmung zeigte.

Weitere Versuche mit den anderen Kaninchen-Immunsera ließen dieselben Wirkungen erkennen. Diese Ergebnisse bestätigen die Untersuchungsergebnisse von *Witebsky* und *Krah* und machen es wahrscheinlich, daß es sich hierbei nicht um Antitoxinwirkungen handelt, sondern um Antikörper, die gegen die Diphtheriebazillen selbst gerichtet sind.

Diphtherie-Komplementbindungsreaktion.

Sensibilisierte Hammelblutzellen 0,5 0,5 0,5 usw.
Komplement 0,25 0,25 0,25 usw.
Kaninchens. 0,25 0,25 0,25 usw.

Extrakt I
Extrakt II = Extrakt I 9,0 + 1,0
Lecithin 1 %
Serum 1 : 10 verd.
Kompl. 1 : 10 „

Hammelbl. 1 : 20
Amboz. 1 : 300

Sensibilisierte Hammelblutzellen 0,5 0,5 usw.
Komplement 0,25 usw.
Extrakte 0,25 0,25 0,25 0,25 usw.

Tabelle 5

NaCl / Extr.-Mengen	⊖ / 0,25	0,1 0,15 usw. / 0,15	0,1	0,05	0,025	ad. 0,25 cc. / 0,02	0,01	0,005	0,0025	0,002	0,001	0,0005	0	NaCl 0,25 (statt K.-S.) 0,05	Serummengen (1 : 10)	NaCl ad. 0,25 cc. / 0,025	0,015	0,01	0,005	0,0025	0,002	0,001	0	Kontr. 0,025
Ka.-Ser. 90 Extr. I	—	++	++	++	++	++	++	++	+++	—	—	—	—	+++	Extr. I	++	++	++	++	++	++	++	++	—
Extr. II	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	Extr. II	+++	+++	+++	–	–	–	–	–	—
Ka.-Ser. 92 Extr. I	–	++	++	++	++	++	++	++	++	+	–	–	–	⊖	Extr. I	++	+	++	++	++	+	+	+	–
Extr. II	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	–	–	⊖	Extr. II	++	++	++	++	–	–	–	–	—
Ka.-Ser. 91 Extr. I	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	—	⊖	Extr. I	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—
Extr. II	·	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	–	–	⊖	Extr. II	++	++	++	++	+	–	–	–	—
Ka.-Ser. 89 Extr. I	—	+++	+++	++	+++	++	++	++	++	—	—	·	—	⊖	Extr. I	++	++	++	++	++	++	++	++	—
Extr. II	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	⊖	Extr. II	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—
norm. Ka.-Ser. Extr. I	—	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	⊖	Extr. I	—	—	++	++	++	++	++	++	—
Extr. II	++	++	++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	⊖	Extr. II	+++	+++	+	—	—	—	—	—	—
antit. Pferdeser. Extr. I	—	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	⊖	Extr. I	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—
Extr. II	++	++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	⊖	norm. Pferdeser. Extr. II	—	—	—	—	—	—	—	—	—
norm. Pferdese.. Extr. I	—	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	⊖	Extr. I	—	—	++	+++	+++	+++	+++	+++	—
Extr. II	—	+++	++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	⊖	Antitox.-Pfdeser. Extr. II	—	–	–	—	–	–	—	–	—
															Extr. I	—	—	—	++	++	++	++	++	—
															Antitox.-Ka.-Serum . . Extr. II	—	—	—	—	—	—	—	—	—
															Ka.-Serum 35 . . . Extr. II	++	++	++	—	—	—	—	—	—
															Ka.-Serum 871 . . . Extr. II	++	++	++	++	—	—	—	—	—
															Ka.-Serum 36 . . . Extr. II	++	++	++	++	++	++	—	—	—
															norm. Ka.-Serum . . Extr. II	++	+	—	—	—	—	—	—	—
															antitox. Pferdeserum . Extr. II	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Eigenhemmung des Extraktes I

Präzipitation.

Weiterhin wurden die Kaninchen-Immunsera auf ihren Gehalt an Präzipitinen geprüft, und zwar mittels der Flockungsreaktion mit Diphtherietoxin. Nach den Untersuchungen von *H. Schmidt* ist die Flockung von Kaninchensera, die höchstens 1:200 AE in 1 ccm enthalten, als Ausdruck einer Eiweiß-Antieiweißreaktion aufzufassen, die in wechselnden, aber oft nicht geringem Grade auch mit der Toxin-Antitoxinreaktion hochwertiger Heilsera als Doppelflockung verknüpft ist. Diese Flockung soll nicht mit der agglutinierenden Wirkung zusammen fallen — nach der Entfernung der Flocken nimmt die agglutinierende Fähigkeit nur ganz unwesentlich ab —, sondern soll auf präzipitierenden Eigenschaften beruhen, die durch Behandlung mit Bakteriensubstanz oder durch Erhitzen zum Verschwinden gebracht werden kann. Auch kann sie nicht als eine Nebenwirkung des Antitoxins aufgefaßt werden, da nach Zerstörung des Diphtheriegiftes durch 10 Minuten langes Erhitzen auf 85° diese Flockung in gleicher Intensität weiter besteht *(H. Schmidt)*.

Präzipitation der Kaninchensera (JKaS.)

mit *Di.-Toxin 520*
Lf 0,07.
(Wasserbad 45 — 48°).

Tabelle 6.

Di.-Toxin	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	ccm
Ka.-Serum	3,0	2,5	2,0	1,5	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	ccm. 1 : 10 verdünnt
Nr. 90	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	### bis + Flockung
35	×	×	×	×	×	—	—	—	—	—	—	—	—	—	⁒ × Trübung
92	×	×	×	×	×	×	×	×	×	—	—	—	—	—	— negativ
871	×	×	×	×	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	⁒ fällt aus
89	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
20	#	#	+	—		—				—					
109	###	#	###	⁒	+	⁒	⁒	⁒	×	×	×	⁒	⁒	⁒	erste Flockg. n. 4 Std.
91	⁒	⁒	⁒	⁒	⁒	⁒	⁒	⁒	⁒	⁒	×	×	—	—	
228	#	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	erste Flckg. n. 24 Std.
229	—		—	—	—	—									
223	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
norm. Ka.-S.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		

Zeichen-Erklärung

Die Versuchsanordnung und -Ergebnisse zeigt Tabelle 6. Zu fallenden Serummengen, 3,0—0,1 ccm 1:10 verdünnten Serums wurden je 2,0 ccm gut flockendes Diphtheriegift zugegeben. Die Präzipitationsröhrchen wurden dann dem Wasserbad von 46° ausgesetzt und der Eintritt von Trübung und Flockung beobachtet.

Es ergab sich, daß von den Kaninchen-Immunsera nur die Sera 109 und 20 eine deutliche Flockung erkennen ließen (das Serum 109 stammt von dem Kaninchen, das mit dem Diphtheriebazillen-Kochextrakt immunisiert worden war). Bei den anderen Sera trat zum Teil nur bei der größten Serummenge 0,3 ccm eine Flockung auf, andere riefen nur eine Trübung hervor, wieder andere Röhrchen blieben völlig klar.

Auch normales Kaninchenserum veränderte die Mischung nicht.

Bakteriolytische Antikörper.

Die Untersuchung der Kaninchen-Immunsera auf bakteriolytische Antikörper erfolgte durch den Pfeifferschen Versuch und den Bakteriolyseversuch in vitro.

2 Ösen von Löfflerserum-Kulturen des virulenten Stammes Breslau 10445 wurden, in Bouillon aufgeschwemmt, einigen Meerschweinchen intraperitoneal injiziert und sofort danach entweder je 1,0 ccm inaktiviertes, homologes Kaninchenserum (von dem Kaninchen, das mit demselben Stamm immunisiert worden war) oder 1,0 ccm inaktiviertes normales Kaninchenserum zur Kontrolle intraperitoneal zugeführt.

Nach 4 Stunden wurde mit Glaskapillare Exsudat aus der Bauchhöhle entnommen und im hängenden Tropfen untersucht. Bei dieser Untersuchung fanden sich nur spärlich Diphtheriebazillen, doch gingen die Tiere am nächsten Tag ein und wiesen bei der Sektion die typischen Erscheinungen des Diphtherietodes auf.

Ein zweiter *Pfeifferscher* Versuch, bei dem der Breslaustamm 12020 als Infektionsmaterial diente, hatte dasselbe Ergebnis. Auch hier gingen die Tiere am zweiten Tag nach der Infektion zugrunde.

Bei dem Bakteriolyseversuch in vitro wurden fallende Serummengen von 2,0 ccm unverdünnten Serums an bis 1,0 ccm 1:1280 verdünnten Serums mit 0,25 ccm Diphtheriebazillensuspension in Bouillon und 1,0 ccm Komplement (1:10 verdünnt) zusammengebracht und $2^1/_2$ Stunden lang im Wasserbad von 37° erhitzt. Als Kontrolle wurden in anderen Röhrchen anstelle des Kaninchen-Immunserums normales Kaninchenserum und normales Pferdeserum den entsprechenden Mischungen zugesetzt.

Nach $2^1/_2$ Stunden wurden von dem Inhalt der Röhrchen einige Ösen auf Löfflerserumplatten überimpft. Ebenso wurden nach 18 Stunden, währenddessen die Röhrchen im Wasserbad von 37° gehalten worden waren, Löfflerserumplatten-Ausstriche angelegt und der Röhrcheninhalt im hängenden Tropfen untersucht.

Die Röhrchen, die Immun-Kaninchenserum enthielten, zeigten makroskopisch eine starke Agglutination, die im hängenden Tropfen als Verklumpung der Bazillen sehr deutlich hervortrat. Eine Bakteriolyse war also nicht eingetreten.

Die Röhrchen mit normalem Kaninchen- oder Pferdeserum wiesen makroskopisch nur eine ganz geringe Agglutination auf und ließen im hängenden Tropfen noch viele einzelne Diphtheriebazillen erkennen.

Die Löfflerserumplatten, die nach $2^1/_2$ und nach 18 Stunden beimpft worden waren, waren ohne Unterschied übersät mit Diphtheriebazillen-Kulturen.

Echte bakteriolytische Antikörper waren somit in den Kaninchenimmunsera nicht nachzuweisen. Die opsonische Wirkung dieser Sera auf Diphtheriebazillen wurde experimentell nicht nachzuweisen unternommen, doch darf man auf Grund bisheriger Erfahrungen in der Literatur einen gewissen Opsoningehalt dieser Sera annehmen.

Die Kaninchen-Immunsera enthalten also spezifische Antikörper, die gegen die Diphtheriebazillen gerichtet sind, die sich je nach den Versuchsbedingungen als Agglutinine, komplementbindende Antikörper und Präzipitine nachweisen lassen. Bakteriolysine fehlen völlig. Diese Tatsache kann damit erklärt werden, daß die Diphtheriebazillen sehr schwer, vielleicht überhaupt nicht aufgelöst werden und auch durch die Phagocyten nach Einwirkung der Opsonine wohl kaum vernichtet werden können.

Ob der Agglutinintest für die Beurteilung eines Serums in Bezug auf seinen Gehalt an antidiphtherischen Stoffen herangezogen werden kann und sogar besser geeignet ist als die Bestimmung des Antitoxingehaltes, wie es *Neill, Richardson, Fleming* usw. (1931) angeben, erscheint sehr fraglich und wird durch die folgenden Untersuchungen noch unwahrscheinlicher.

Nur dann wird man diesen Antikörpern einen Wert zuschreiben können, wenn sie sich zunächst im Tierversuch als wirksam gegenüber der Diphtherieinfektion herausstellen. So wurden

die Immun-Kaninchensera weiter daraufhin untersucht, ob sie einen Einfluß auf die Diphtherieinfektion und -Intoxikation der Meerschweinchen auszuüben imstande sind. Das letztere kann von vorneherein auf Grund der vorherigen Feststellungen kaum angenommen werden, weil die Immunsera praktisch kein Antitoxin enthalten, den Tieren dagegen reines Diphtheriegift injiziert wird.

In Vorversuchen wurde zunächst die tödliche Dosis der Diphtheriestämme bei subkutaner und intraperitonealer Infektion festgestellt. Daß zu der letzteren bedeutend größere Mengen Diphtheriebazillen nötig sind, wurde schon erwähnt und fand auch hier seine Bestätigung. Es ergab sich, daß der Diphtheriestamm Breslau 10445, der zu den weiteren Versuchen in erster Linie verwandt wurde, in einer Dosis von 1:40 Öse in 1,0 ccm Bouillon das Meerschweinchen bei subkutaner Infektion am 4. Tage tötete. Da die Infektionsdosis nach Ösen aber kein absolutes Maß darstellt und die Meerschweinchen verschieden empfindlich gegen die gleiche Infektionsdosis sind, wurden

Heilversuch mit JKaS. bei Infektion mit Diphtheriebazillen.

> 1 tödliche Dosis!

Tabelle 7

JKaS. = Immun-Kaninchenserum

Meerschw.-Nr.		subc.		gleichz.	1. Tag	2. Tag	
476	(400 g)	1/15 Öse	Br. 10445	1,0 JKaS	(390 g)	┼	typ. Di.-Tod
493	(390 g)	1/15 Öse	„	2,0 JKaS	(380 g)	┼	typ. Di.-Tod
458	(410 g)	1/15 Öse	„	4,0 JKaS	(400 g)	┼	typ. Di.-Tod
494	(430 g)	1/15 Öse	„	8,0 JKaS	(420 g)	┼	typ. Di.-Tod
495	(430 g)	1/15 Öse	Kontr.	—	(420 g)	┼	typ. Di.-Tod
		bei wiederholten Dosen von JKaS.					
492	(420 g)	1/15 Öse		1,0 JKaS morgens			
				1,0 JKaS abends	(380 g)	┼	typ. Di.-Tod
494	(370 g)	1/15 Öse		2,0 JKaS morgens		┼	typ. Di.-Tod
				2,0 JKaS abends			

(Die eingeklammerten Zahlen geben das Gewicht der Tiere in g an)

Infektionsmengen von 1:15, 1:20 oder 1:30 Öse gewählt, um den sicheren Tod der Versuchstiere, erkennbar an den Kontrollen, zu gewährleisten.

Die Tabelle 7 zeigt die Versuche über den Einfluß des Serums bei der Infektion. Den Meerschweinchen wurden 1:15 Öse, in 1 ccm Bouillon aufgeschwemmt, subkutan injiziert und sofort hinterher 1,0, 2,0, 4,0 und 8,0 ccm unverdünntes Immunserum ebenfalls subkutan in die andere Bauchseite eingespritzt. Die Tiere zeigten am nächsten Tage unterschiedslos große Infiltrate auf der Seite der Infektion und gingen am 2. Tage nach der Injektion ein, ebenso verhielt sich das Kontrolltier, das kein Serum erhalten hatte. Die Sektion ergab bei allen Tieren Symptome schwerer Diphtherieintoxikation. In Vorversuchen war festgestellt worden, daß bei derselben Infektionsdosis (1:15 Öse) schon 1 AE, die 18 Minuten nach der Bazilleninjektion subkutan injiziert wurde, das Tier vor dem Tode schützt und mehrere AE auch nach längerer Zeit noch eine Heilung herbeiführen.

Auch wiederholte Serum-Injektionen — es wurden anschließend an die Bazilleninjektion 1,0 bzw. 2,0 ccm Immun-Kaninchenserum, nach 6 Stunden nochmals 1,0 bzw. 2,0 ccm Serum injiziert — schützten die Tiere nicht und führten auch keine Verzögerung des Todes herbei.

Auch wenn die Infektionsdosis so gering gewählt wurde, daß nicht einmal jedes Kontrolltier einging, zeigte sich das Kaninchen-Immunserum nicht imstande, den Tod unbedingt zu verhindern und eine endgültige Heilung herbeizuführen. Wohl blieben einige Tiere am Leben (s. Tab. 8), doch müßten, wenn dem Kaninchen-Immunserum ein noch so geringer Heilwert zukäme, alle so geringfügig infizierten Meerschweinchen ausnahmslos die Infektion überstehen; das war zwar keineswegs der Fall, jedoch könnte man aus dieser Versuchsreihe eine gewisse Wirkung des Kaninchen-Immunserums annehmen.

Einer weiteren Serie von Meerschweinchen (Tab. 9), die mit je 1:15 Öse des Stammes 10445 infiziert worden waren, wurde sofort nach der Infektion Immun-Kaninchenserum in verschiedenen Mengen, 1,0, 3,0 und 6,0 ccm injiziert, zusammen mit

1,0 bzw. 2,0 ccm frischem Komplement. Diese Tiere kamen am 2. oder 3. Tage nach der Injektion ad exitum. Vielleicht war bei diesen Versuchen die Infektionsdosis von 1:15 Öse schon zu groß, es kann aber ihre Wirkung sicher durch Antitoxin aufgehoben werden.

Tabelle 8

Meerschw.-Nr.	subkutan	1. Tag	3. Tag	5. Tag	7. Tag	9. Tag	11. Tag	
385	1/30 Öse Breslau 10445 n. 1 Std. *1,0* JKaS.	○	○	–	–	–	–	bleibt am Leben
386	1/30 Öse Breslau 10445 n. 1 Std. *5,0* JKaS.	–	–	–	–	–		bleibt am Leben
397	Kontrolle 1/30 Öse Breslau 10445	–	–	–	┼ am 6. Tag: Diphtherie-Tod			
389	Kontrolle 1/30 Öse Breslau 10445	–	–		○	○	○	┼ am 19. Tag: Di.-Tod
395	Kontrolle 1/30 Öse Breslau 10445, n. 1 Std. 2,0 norm. Pferdeser.	○	–		–	┼ am 8. Tag: Diphtherie-Tod		
410	1/20 Öse Breslau 10445 n. 1 Std. *5,0* JKaS.	–	–	–	○	○	┼ nach 11 Tagen	
406	1/20 Öse Breslau 10445 Kontrolle	–	–	–		–	–	bleibt a. Leben (!)

○ bedeutet Infiltrat

JKaS. und frisches Komplement.

Tabelle 9

Meerschw. Nr.	subkutan	1. Tag	2. Tag	
402 (480 g)	1/15 Öse + *1,0* JKaS. + 1,0 Kompl.	(450)	┼	
421 (510 g)	1/15 Öse + *3,0* JKaS. + 2,0 Kompl.	(470)	–	┼
411 (480 g)	1/15 Öse + *6,0* JKaS. + 2,0 Kompl.	(440)	┼	
	subc. gleichzeitig			
495 Kontrolle	1/15 Öse Br. 10445		┼	

Wie angenommen werden mußte, hatte das Kaninchen-Immunserum auf die Diphtherie-Intoxikation des Meerschweinchens ebenfalls keinen Einfluß (Tabelle 10).

Meerschweinchen, die 1—2 D. l. m. eines Diphtherietoxins subkutan erhalten hatten und denen sofort danach 1,0, 2,0, 4,0 und 8,0 ccm Kaninchen-Immunserum subkutan auf die andere Bauchseite injiziert worden waren, gingen schon am 2. Tag nach der Infektion ein, außer demjenigen, das 2,0 ccm Serum erhalten hatte und wohl besonders widerstandsfähig gegen das Diphtherietoxin war. Auch dann war keine Heilwirkung vorhanden, wenn das Serum statt subkutan, intraperitoneal injiziert wurde, obwohl doch bekanntlich vom Peritoneum aus eine schnellere Resorption von Antikörpern eintritt.

Heilversuch mit Imm.-Kan.-Serum bei Di.-Intoxikation.

Tabelle 10

Meerschw.-Nr.	Injektion von	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	
455 (300 g)	1 Dlm. subc. 5,0 JKaS	○ (290)	○ (300)	○ (290)	✝	typ. Di.-Tod	
468 (320 g)	2 Dlm. 5,0 JKaS	○ (300)	○ (320)	○ (320)	○ (320)	○ (300)	
470 (320 g)	3 Dlm. 5,0 JKaS	○ (300)	✝	typ. Di.-Tod			
K 491 (320 g)	1 Dlm. ⊘	○ (300)	✝				
421 (340 g)	1—2 Dlm. subc. 1,0 JKaS	○ (290)	✝	typ. Di.-Tod			
489 (350 g)	1—2 Dlm. 2,0 JKaS	○ (350)	○ (350)	○ (320)	○ (230)	○ (280)	
212 (350 g)	1—2 Dlm. 4,0 JKaS	○ (350)	✝ (340)				
496 (350 g)	1—2 Dlm. 8,0 JKaS	○ (350)	✝				
310 (220 g)	1 Dlm. subc. 5,0 JKaS ip.	○ (230)	✝	geringfügige Intoxikationssympt. (Invagination des Dickdarms)			
313 (240 g)	1 Dlm. subc. 5,0 JKaS + 5,0 Kompl. ip.	✝	Di.-Tod				
314 (250 g)	1 Dlm. subc. 5,0 JKaS + 5,0 inakt. Kompl. ip.	○ (250)	○ (250)	○ (240)	○ (250)	○	N. ✝ nach 24 Tagen

Die eingeklammerten Zahlen bedeuten Gewicht

Diese völlig negativen Ergebnisse geben die Berechtigung zu dem Schluß, daß antibakterielle Heilsera mit äußerst geringem Antitoxingehalt für die Diphtherie gewöhnlich keinen Heilwert besitzen. Sie widerlegen aber nicht ohne weiteres die Erfahrungen von *Ivanić* usw. und *Feierabend*, da die verwendeten

Stämme nicht ganz frisch gewesen sind und schon ihre besonderen Eigenschaften durch Alter und Überimpfen verloren haben können.

Auch können die Versuchsergebnisse nicht ohne weiteres auf die menschliche Diphtherie übertragen werden, bei der vielleicht der bakterielle Faktor und die antibakterielle Beeinflussung viel größere Bedeutung haben als bei der Meerschweinchendiphtherie.

Aus der Unwirksamkeit der Kaninchen-Immunsera im Tierversuch ergibt sich außerdem, daß auch größere Mengen von Kaninchenserum eine wirkungsvolle unspezifische Reizwirkung auf die Meerschweinchendiphtherie nicht ausüben können.

Die experimentellen Untersuchungen lassen folgende Schlußfolgerungen zu:

1. Diphtheriesera, die nach Immunisierung mit lebenden Diphtherie-Bazillen gewonnen worden sind, haben einen Heilwert, der nur ihrem Gehalt an Antitoxineinheiten entspricht.
2. Es können durch Immunisierung mit abgetöteten, gewaschenen Diphtheriebazillen Sera von Kaninchen gewonnen werden, die reichlich Agglutinin, komplementbindende Antikörper, z. T. Präzipitin und Antitoxin in ganz geringer Menge enthalten. Bakterizide Antikörper sind in ihnen nicht nachweisbar, ein gewisser Opsoningehalt kann angenommen werden.
3. Diese Sera haben bei der Diphtherieinfektion und -Intoxikation des Meerschweinchens bei gleichzeitiger Injektion, bei wiederholter Injektion und bei Injektion mit Komplement zusammen keinen deutlichen Heilwert und keinen Einfluß auf den Verlauf der Erkrankung. Somit fehlt ihnen auch ein sich günstig auswirkender, auf unspezifische Eiweißwirkung beruhender Einfluß auf die experimentelle Diphtherie-Erkrankung.

Schlußzusammenfassung.

Das Versagen des rein antitoxischen Diphtherieheilserums in Fällen von maligner Diptherie hat die alleinige Bedeutung des Toxins und Antitoxins für die Pathogenese und die Immunitätsverhältnisse in Frage gestellt und die Erörterung über die bakterielle Komponente in den Vordergrund gerückt.

Nach Berücksichtigung des in Frage kommenden Schrifttums und auf Grund von Versuchen in vitro und in vivo ergaben sich folgende Zusammenhänge und Folgerungen:

Eine günstige Beeinflussung der Diphtherie wird am sichersten durch die Anwendung von antitoxischem Heilserum erreicht; es kann über die Hauptwirkung des Toxins auf Mensch und Tier und die Zerstörung des Toxins durch Antitoxin kein Zweifel bestehen. Bei der Anwendung von antitoxischem Heilserum spielen andere, in ihnen enthaltene Antikörper keine deutliche Rolle, auch kommt dem Serumanteil keine besondere Bedeutung zu.

Doch hat das normale Pferdeserum, das Antitoxin nur in ganz geringer, zur direkten Beeinflussung des Toxins aber nicht genügender Menge enthält, einen geringen Einfluß auf die Diphtherieerkrankung, die sich bei der experimentellen Meerschweinchendiphtherie nur bei der Infektion mit Diphtheriebazillen, nicht bei der Intoxikation mit Toxin bemerkbar macht. Diese Wirkung besteht wohl in erster Linie in der Beeinflussung der Entzündungsvorgänge und vielleicht infolge unspezifischer Eiweißwirkung in einer schnellen Mobilisierung und Bildung körpereigenen Antitoxins. Da bei anderen Eiweißkörpern diese günstige Wirkung nicht nachzuweisen ist, erscheint es nicht ausgeschlossen, daß dem Pferde-Normalserum gewisse Eigenschaften dem Toxin gegenüber zukommen, die in der beobachteten Komplementbindung von Toxin-Normalserumgemischen zutage treten (s. Teil II).

Antibakterielle Immunkörper sind für die experimentelle Diphtherieerkrankung bedeutungslos. Zwar können durch Immunisierung mit lebenden und abgetöteten Diphtheriebazillen Im-

munsera gewonnen werden, die bei Verwendung von abgetöteten gewaschenen Diphtheriebazillen kaum Antitoxin, dagegen gegen die Bazillen selbst gerichtete spezifische Antikörper enthalten (Agglutinin, komplementbindende Antikörper, Präzipitin usw.). Diese Tatsache spricht aber nicht unbedingt für die besondere Bedeutung der Bazillen selbst, da sich der Körper gegen alle parenteral zugeführten Stoffe durch Bildung von Antikörpern schützt. Außerdem kommt, wie die Versuche mit diesem antibakteriellen Serum zeigen, dem artfremden Kaninchenserum bei der experimentellen Diphtherieerkrankung des Meerschweinchens keine deutliche Wirkung zu, die für den Wert unspezifischer Eiweißkörper sprechen könnte. Auch das Komplement spielt, wie aus der folgenden Arbeit hervorgeht, keine besondere Rolle bei der Diphtherie. So muß weiterhin dem Toxin die Hauptbedeutung bei der Diphtherie und allen seinen Krankheitserscheinungen zugeschrieben und das Augenmerk in erster Linie auf die Ausschaltung der Toxinwirkung gerichtet werden.

Literatur.

Albrecht, M.: Zur Behandlg. d. Diphtherie mit unspezif. Serum. Therapie der Gegenwart 1919, Bd. 60, S. 404.

Andrews Bulloch, Douglas, Dreyer, Gardner Fildes Ledingham Wolf: Diphtheria. London. Medic. Res. Council 1923.

Bächer und *Laub:* Zur Frage der antiinfektiösen Wirkung des Di. Heilserums. Z. f. B. I Orig. 1912, Bd. 61, S. 254

Bandi: Über die Bereitung eines antibakt. Di. Serums, sein prophylakt. u. -Heil-Wert. Z. f. B. I Abt. 0. 1903, Bd. 33, S. 535.

Bandi: Die bivalente antidiphther. Serumtherapie. Z. f. B. I Abt. 0. Bd. 60, S. 251.

Becker: Über ein neuartiges Di.-Scharlachserum. D. m. W. 1929, Nr. 2.

Becker: Über die Wirkung d. Diphtherie-Antitoxins in vitro und in vivo. Z. f. Imm. frschg. 1927, Bd. 52, Seite 402.

Belfanti: Über antitox. und antimikrob. Di. Serum. Z. f. B. Abt. I 0. 1908, Bd. 47, S. 248.

Belfanti: Ref. Kongreßzentralblatt 1929, Nr. 53, S. 812.

Belonowsky: Über die Rolle des Komplements. Z. f. Imm. frschg. u. exp. Therapie, Bd. 53, S. 118.

Bessemans, de Potter, Deckers: La diphthérie et la réaction de fixation du complément. C. rend. Soc. Biol. 1927, *97*, S. 743.

Bessemans, A., G. Ramon, F. de Potter: Sur l'apparition et l'évolution de certains anticorps chez des chevaux injectés par différentes voies au moyen de divers antigènes diphtériques, Ann. Inst. Pasteur 1931, Bd. 47, 358. Arch. internat. Méd. expér. 5. 1930, S. 535.

Berghaus: Über Beziehungen d. Antitoxingehaltes des Diphtherieserums zu seinem Heilwert. Z. f. B. I Abt. 0. 1909, Bd. 48, S. 450, Bd. 49, S. 281, Bd. 50, S. 87.

Bingel: Über die Behandlg. d. Diphtherie mit gewöhnl. Pferdeserum. Arch. f. kl. Med., Bd. 125, S. 284. Leipzig, Verlag F. L. V. Vogel 1918.

Bingel: Zur Behandlung der Diphtherie mit gewöhnl. Pferdeserum. D. m. W. 1919, S. 739.

Birk: Über Behandlg. d. Diphtherie mit gewöhnl. Pferdeserum. Med. Klinik 1919, S. 891.

Bonhoff: Zur Behandlg. d. Diphtherie mit gewöhnl. Pferdeserum. D. m. W., Nr. 42, 1918, S. 1153.

Borchgrevink: Beschleunigt die Serumbehandlg. die Abstoßung d. Diphtheriebelages? Beiträge zur Klinik der Infektionskrankh. 1914—16, Bd. 4, S. 385.

Bormann, F. v.: Erfahrungen mit dem Symbioseserum. D. m. W. 1931, Nr. 27.

Brückner: Die Behandlung der Diphtherie nach Bingel. M. m. W. 1919, 698.

Benedikt und *Baar:* Wirkg. hom. u. heterol. Sera b. Di.-Behandlg. malign. Di. m Bluttransfus. Kli. Wo. 1932, S. 1545 u. 1549.

Bertin: Gaz. Méd. de Nantes 1895.

Briger, Boer, Rist: Cit nach Belfanti 1908.

Cowie und *Greenthal:* Studies on the nature of the action of non specif. protein in disease-processe. Non specif. proteins and sollules toxin. Ref. Zeitschr. f. ges. Hyg. 1922. S. 433. J. of med. res. Vo. 43, p. 21, 1922.

Gruveilhier: De la valeur thérap. de l'antitoxin dans les sérum antidiphthér. Annales de l'Instit. Past. Vol. 19, 1905, S. 249.

Dean, H. A.: Journ. of Path. and Bacteriol. 1927, Bd. 30, S. 675.

Debré, Ramon Thiroloix: Etude pathogénique de 40 cas de Di. et essais thérapeut. Bull. soc. méd. Hop. Paris III, 47, 626, 1931.

Deicher und Agulnik: Über gehäuftes Auftreten ungewöhnl. bösartiger Diphtherie. D. m. W. 1927, Nr. 20.

Demnitz und Scholz: Üb. d. Resorpt. v. Heilserumpräp. Kli. Wo. 1932, S. 588.

Dold und Klinkhart: Studien über den Einfluß der Technik und anderer äußerer Faktoren auf die Titerhöhe hämolytischer Ambozeptoren. Arbeiten aus dem Staats-Institut für exp. Therapie, Frankf./M. 1922, 15, S. 23.

Dorn: Zur Frage der Diphtheriebehandlung mit normalem Pferdeserum. Berlin. kl. Woschr. 1919, S. 988.

Feer: Zur Behandlung der Diphtherie mit gewöhnl. Pferdeserum M. m. W. 1919, S. 343.

Feierabend und *Schubert:* Experim. Untersuchungen mit Stämmen von maligner Diphtherie. Z. f. Imm. frsch. 1929, 62, S. 283.

Fibiger: One Serumbehandlung of Difteri. Hosp. Tid. 4 R Vol. 6, 1904, R. 309.

Finkelstein und *Königsberger:* D. m. W. 1929, Nr. 29.

Fränkel: cit. nach Langer. C. f. B. 78, 118.

Friedberger: Hat das normale Pferdeserum einen Einfluß auf die exper. Infektion d. Meerschw. mit Di. Bazillen? Berliner kl. Woschr. 1919, 56, S. 151.

Friedemann: Diphtherie-Serumtherapie und -Schutzimpfung. Verhandlg. d. Deutschen Gesellsch. f. innere Mediz., Wiesbaden 1931, XLI Kongreß.

Gins: Diphtherie. Handbuch der pathog. Mikroorganismen. Kolle, Kraus, Uhlenhuth Bd. 5, 1927.

Glusman: Experim. Bestätigung d. Unwirksamkeit norm. Serums auf die Di. Intoxikation. Z. f. Hyg. Bd. 103, S. 526, 1924.

Grabenhofer: Erfahrungen mit dem Symbioseserum, M. m. W. 1931, 27. S. 1144.

v. Groer: Zur Frage der Bedeutung spez. ergotroper Wirkungen d. Serums bei der Heilserumtherapie d. Diphtherie. Zeitschr. f. ges. exp. Mediz., Bd. 7, 1918.

v. Groer und *Progulski:* Über die Wirkung des Diphtherieheilserums im Organism. d. Neugeborenen. Zeitschr. f. Kinderheilk. 1923, *34*, S. 185.

v. Gruber: cit. nach Lindemann. 1911.

Gundel: C. f. B. I Abt. Orig., Bd. 101, S. 350.

Gottstein: Zur Epidemiologie der Diphtherie. Therap. Monatshefte 1901 und 1902.

Hamburger: M. m. W. 1930, Seite 1049.

Hamburger u. *Moro:* Über die biol. nachweisbaren Veränderungen d. menschl. Blutes n. d. Seruminjektion. W. kl. W. 1903, S. 445.

Henke: Heilversuche mit d. Behringschen Diphtherieheilserum am Meerschweinchen. Virchow Arch. 1898, S. 233, Bd. 54.

Hentschel: 41. Tg. d. Dtsch. Ges. f. Kinderheilkunde.

Herb: The bactericidal value of the antidiphtheric serum, with therapeutic deduction. med. Rec. 1922, *101*, 451. Ref. Zeitschr. f. ges. Hyg. 1922, S. 520.

Herzfeld: Über die Behandlung d. Diphtherie mit Pferdeserum. M. m. W. 1919, S. 954.

Herzfeld, Meyer-Umhöfer, Becker: Zur Frage d. Ersatzes d. spezif. Serumtherapie d. Proteinkörpertherapie. D. m. W. 1926, Bd. 52, 1464.

Hetsch u. *Bieling:* Arb. Staatsinst. experiment. Therap. Frankfurt. H. 21.

Hirsch, J.: Zeitschr. f. Hygiene. 1931. *112.* 660, 1932. *114.* 195.

Hoen, Tschertkow: Über bazillare Immunität bei Diphtherie. Z. f. B. I Abt. O. 1931, Bd. 120, S. 320.

Hottinger u. *E. Lorentz:* Schickreaktion und Serumwirkung: Klin. W. 1931, S. 2351, Nr. 51.

Huntemüller: Der Nachweis der natürlichen Abwehrkräfte (Alexine) im Blutserum. Med. Klin. 1930, S. 1293.

Husler: Über die „schwere" Diphtherie. M. m. W. 1931, Nr. 30.

Jacobson: Über die Bedeutung der Serummenge bei der antitox. Behandlung der Diphtherie. Monatschr. f. Kinderheilk. 1930, 46, S. 321.

Joannowics, G.: Zur Behandlung der Diphtherie mit gewöhnl. Pferdeserum. W. kl. W. 1919, 32, S. 220.

Ivanič, St. Z., V. Dimitrijevic-Speth Jovanovic: Kruppstämme von maligner Diphtherie, die nicht durch antitox., wohl aber durch antibakt. Serum im Meerschw. paralys. wurden. Z. f. B. I Abt. O. 1931, Bd. 121, S. 432.

Kantor: C. f. B. Referat 86. 1927.

Karger, P.: Zur Behandlung der Diphtherie mit antitoxinfreiem Pferdeserum. D. m. W. 1919, S. 597.

Kastenmeyer: Über den Einfluß normalen, antitoxinfr. Pferdeserums auf die exp. erzeugte Di. Infektion und Intoxikation des Meerschweinchens. Arch. f. Kinderheilk. 1919, Bd. 67, S. 365.

Klein: C. f. B. 1896, Bd. 20, S. 417.

Kleinschmidt, H.: Zur spezif. Therapie und Prophylaxe d. Diphtherie. Jahrbuch f. Kinderheilk. 1917, 86, S. 263.
Handbuch d. exp. Therapie, Serum- u. Chemotherapie, Wolff. Eisner, München 1926.

Kliewe: Variabilitätsstudien und Gruppeneinteilung bei Di. Bazillen und anderen Corynebakterien. C. f. B. I Abt. O. 1926, Bd. 101, S. 6, S. 199.

Klotz: Behandlung der Diphtherie n. Behring oder Bingel? Berliner kl. Wschr. 1919, Nr. 42.

Kolle, Joseph, Schloßberger: Untersuchungen über die Avidität der Diphtherieantitoxine u. über die Polyvalenz d. Diphtheriesera. Arbeiten aus dem Inst. f. exp. Therapie, Frankfurt/Main, H. 8. 1919, S. 16.

Kolle, Schloßberger: Zur Frage der Heilwirkung des Diphtherieserums, experim. Untersuchungen und kritische Betrachtungen. Md. Klinik 1919, Bd. 15 S. 83, 579, 553.

Königsberger: Monozytenangina oder maligne Diphtherie? D. m. W. 1927, Nr. 21

Krah und *Witebsky*: Studien über Diphtheriebazillen-Antikörper. Z. f. Imm. frschg. und exp. Terapie 1930, Bd. 66, S. 59.

Krah und *Witebsky:* Über komplementbindende Antikörper in antitox. Diphtherieseren. Z. f. Imm. forschg. 1930, Bd. 66, Seite 78.

Kraus und *Bächer:* Über Beziehungen des Antitoxingehaltes d. Diphtherieserums zu dessen Heilwert. D. m. W. 39, S. 1081.

Kraus und *Sordelli:* Z. f. Imm. 1921, 31. S. 107.

Kraus und *Schwoner:* Über Beziehungen des Antitoxingehaltes d. Diphtherieserums zu dessen Heilwert. Z. f. B. I Abt. O., 1908, Bd. 47, S. 124.

Kretschmer: Beitr. z. Bekämpfg. d. Baz. Persist. Med. Klin. 1911, 3.

Kundratitz: Zur Behandlung der malignen Diphtherie. Md. Klin. 1930, S. 1289.

Kundratitz: Zum Diphtherieproblem. Md. Kl. 1931. Nr. 48, S. 1753.

Landsteiner: Über die Folgen der Einverleibung steril. Bakterienkulturen. Wi. kl.W. 1897, S. 439.

Legroux: Ramon, Debré, Thiroloix; Mode de préparation d'un sérum antidipht. C. r. Soc. d. Biol. 1931. Nr. 4, S. 279.

Legroux; Ramon, Debré, Thiroloix: Etude expérim. d'un sérum antidipht. obtenu par l'inj. au cheval de germes vivants récemment isolés chez des malades. C. r. Soc. d. Biol. 1931, Nr. 4, S. 279.

Liebermann, Ivanow: Bakteriämie. Ref. C. f. B. Bd. 88, Journ. de microbiol. Bd. 5, I, 10—17.

Lignières, J.: Bull. Acad. Méd. Paris III, 104 720. Ref. Z. f. ges Hyg. 1931, Bd. 24, S. 15.

Lindemann: Über Tropine und Opsonine im Diphtherie-Immunserum. Arb. Kais. Ges. Amt. Bd. 36, S. 163, 1911.

Lindemann: Z. f. Hyg. u. Inf. Krankh. 1932, 288.

Lipstein: Über Immunisierung mit Diphtheriebazillen. D. m. W. 1902, S. 821. C. f. B. 1903, I Abt. O. Bd. 34, S. 421.

Lorey: Neue Gesichtspunkte zur Behandlung der Diphtherie, d. Scharlachs u. v. eitrigen Prozessen. M. Kl. 1912, 1069.

Lorenz, E.: Beeinflussung d. Diphtherieantitoxintiters durch Reizkörper. Z. f. Kinderheilk. Bd. 52, S. 234, 1932.

Lubowski: Über einen atox. und avirul. Diphtheriestamm und über Agglutination der Diphtheriebazillen. Z. f. H. 35, S. 90.

Mac Coney und *Weld:* Cit. nach Schmidt, Z. f. Imm. u. experim. Ther. 1926, S. 217.

Mackie: Observations on the protect. action of normal serum in experim. infection with Baz. diphth. J. of Imm. 1923, Vol 8, p. 35.

Marfan: Leçons cliniques sur la Diphtérie. Paris 1905.

Martin, Louis: Cit. nach Roskam (s. Roskam).

Martin, Prévot, Loiseau: C. r. Soc. Biol. 1910, Bd. 39, S. 56.

Marx: Experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen zwischen dem Gehalt an Immuneinheiten und dem schützenden u. heilenden Wert des Diphtherieheilserums. Z. f. Hyg. 1901, Bd. 38, S. 372.

Medem: Erfahrungen mit Symbioseserum bei Diphtherie. D. m. W. 1931, Nr. 4.

Menabuoni: Z. f. Imm. Referat. Bd. 1.

Mettenheim: Schutz- u. Heilmittel d. Diphtherie. Med. Welt 1931, S. 1595.

Meyer, S.: Experimentelle Studien üb. d. Einfluß antitox. u. norm. Pferdeserums auf die Infektion d. Meerschweinchen mit Di.-Bazillen, mit Mischkulturen v. Di.-Bazillen u. Streptokokken sowie auf d. Vergiftung mit reinem Di.-Toxin. M. m. W. 1919, S. 873.

Meyer, H.: Über die Behandlung der Diphtherie mit normalem Pferdeserum. D. m. W. 1920, S. 1048.

Nasso: Ref. Arch. f. Kinderheilk. Bd. 77, 1926, S. 313.

Neill, Richardson, Fleming: 1931 ref. Z. f. ges. Hyg. 25. Bd., S. 340.

Neschtschachimenko: Zur therap. Wirkung von Normalserum b. Diphtherie. Profilakt. Mediz. 1924, 7/8. Ref. C. f. B. 1925, Bd. 179, 257.

Neufeld und *Händel:* Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. 38, S. 219, 1911.

Nicolas: Cit. nach Langer, C. f. B. 78, S. 118.

Nicolle: Recherches sur la substance agglutinique. Ann. de l' Instit. Pasteur 1898, Mars.

Okkubo, S.: Über die opsonische Wirkung des Behringschen Diphtherie-Heilserums. Z. f. Imm. forschg. 1910, Bd. IV, S. 1.

Opitz: Immunisatorische Wirkung der Schickreaktion. Kl. W. 1927, 1701.

Plange, Schmitz: M. m. W. 1915, S. 395.

Prigge, R.: Zeitschr. f. Immunitätsf. 1932, 77, 421.

Ramon, Debré, Thiroloix, Legroux: Recherches biol. et immunol. sur la Di.

Ramon, Besseman, de Potter: C. r. de Soc. de Biol. 1930/104.

Reiche: Medizinische Klinik 1916, S. 180. Med. Klin. 1913.

Roux, Martin: Cit nach Belfanti. 1908 (siehe dort).

Ruppel: D. m. W. 1923, Nr. 2.

van Riemstijk: C. f. B. 1915, 75, S. 256.

Ramon, Debré: Sérum et Sérothérapie antidiphtérique. Annales Méd. 1931, *29*, S. 587.

Ratnoff, Hymann: Zur Wirkung des Normalserums auf die Diphtherie-Infektion. Kl. W. Jahrgang 2, Nr. 10, 1923, S. 440.

Renaux: Ann. de l'Institut Pasteur 1928, *42*, 356.

Rocdelius: Über das Vorkommen von Diphtheriebazillen im strömenden Blut. Z. f. Hyg. *75*, 1913, S. 497.

Rolly: M. m. W. 1916, Nr. 40.

Roskam: La desinfection des port. de bacillus diphtérique. Annales de l'Institut Pasteur 1918, S. 255, 1919, S. 318.

Sato: Untersuchungen über die Wirkung des Diphtherie-Heilserums auf exp. Kaninchen-Diphtherie. Z. f. Imm. forschg., Bd. 34.

Sauerbeck: Experimentelle Studien über Phagocytose. Z. f. Imm. forsch., Bd. 3, 1909, S. 731.

Seligmann: Über Diphtherie-Immunität. Z. f. Hyg. 1918, Nr. 87, S. 243.

Simic, T. V. Das Auftreten und die Bedeutung von Bakteriämie bei Diphtherie. Z. f. B. I Abt. O. 1931, Bd. 120, S. 385.

v. Starck: Zur Diphtherieheilserumbehandlung. Md. Kl. 1921, S. 332.

Scirmai: Zur Behandlung der Diphtherie: W. kl. W. 1932, Nr. 5, S. 133.

Spiegelberg: Diphtheriebazillen beim Geflügel. Agglutination. Z. f. B. I Abt. O, 1915, Bd. 75, S. 273.

Schaber: M. m. W. 1931 Nr. 30.

Schmidt, H.: Zur Kenntnis der Nat. der Diphtherietoxin-Antitoxinflockung. Z. f. Imm. und exp. Therapie. 1926, Bd. 48, S. 217.

Schmidt, H.: Die Praxis der Auswertung von Toxinen und Antitoxinen. Jena. Verlag Gustav Fischer, 1931.

Schmidt, H.: Über den Wert der Serumtherapie bei Diphtherie gravis. D. m. W. 1927, Nr. 43, S. 1810.

Schmidt, R.: Über Proteinkörpertherapie und über parenterale Zufuhr von Milch, M. kl. 1916, S. 171.

Schwenkenbecher: Über das Diphtherieserum und die Serumbehandlung der Diphtherie. Berl. kl. Wo. 1921, 1211.

Tunnicliff: J. of inf. dis. Vol. 5, S. 14, 1908.

Uffenheimer: Weshalb versagt das Behringsche Diphtherieheilserum in gewissen Fällen? M. m. W. 1909, S. 598.

Van de Velde: Beitrag zur Kenntnis der antitox. und antiinfektiösen Kraft d. Anti-Diphtherieserums. Z. f. B. I Abt. O. 1897, Bd. 22, S. 527.

Wassermann: Über eine neue Art von Diphtherie-Heilserum. D. m. W. 1902, S. 785.

Went: Über die agglutinierenden und phagocytosebefördernden Stoffe von Normalseris. Z. f. Imm. forschg. 1924, Bd. 40, S. 509.

Wernicke und *H. Schmidt:* Immunität, Serumtherapie und Schutzimpfung bei Diphtherie. Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Kolle, Kraus, Uhlenhuth, Bd. V. 1928.

Witebsky: Siehe Krah u. Witebsky.

Aus dem Institut für experimentelle Therapie
„Emil von Behring", Marburg/Lahn (Leiter: Prof. Dr. H. Schmidt).

II.

Experimentelle Studien über die Rolle des Komplementes bei der experimentellen Diphtherieerkrankung.

Im Zusammenhang mit der Frage nach der Art der im Diphtherie-Heilserum wirksamen Antikörper muß auch die Bedeutung des Komplementes bei der experimentellen Diphtherie-Erkrankung in Betracht gezogen werden.

Das Komplement nimmt nach der bestehenden Meinung unter den Antikörpern des frischen Serums insofern eine besondere Stellung ein, als es nicht für sich allein eine antibakterielle Wirkung ausübt, sondern erst, wie schon der Name sagt, in Gemeinschaft mit anderen Serumbestandteilen. Auch unterstützt und verstärkt es die Wirkung der anderen Antikörper. Man hat wohl aus diesem Grunde verschiedentlich die Ansicht vertreten, daß die Komplementwirkung nicht an einen chemisch greifbaren und isolierbaren Körper, sondern an eine kolloidale Zustandsform geknüpft sei und darauf auch sein labiles Verhalten und die leichte Beeinflussung durch Salze zurückgeführt. Doch hat heute die Anschauung von dem Fermentcharakter des Komplementes wieder an Boden gewonnen, und diese Auffassung vom Komplement als eines fermentähnlichen Körpers macht die Vielseitigkeit der Funktion erklärlich, die dem Komplement zugesprochen wird. Seine unzweifelhafte Bedeutung bei der Wirkung der Antikörper hat dazu geführt, daß ihm ein grundsätzlicher Wert für den Verlauf und Ablauf der Infektionskrankheiten zuerkannt und der Komplementgehalt des Serums zur prognostischen Beurteilung einer Erkrankung herangezogen wurde.

Die Frage nach der Bedeutung des Komplements bei der Diphtherie ist mehrfach erörtert worden und hat verschiedene Beantwortung gefunden.

So hat *Uffenheimer* (1909), der dem Komplement eine ausschlaggebende Rolle bei dem Schutz des Körpers vor dem Eindringen von Keimen vom Magendarmkanal aus zuschrieb, diese Frage experimentell zu klären versucht. Er stellte zunächst fest, daß bei der Verankerung von Toxin und Antitoxin im Reagensglas Komplement *nicht* mitgebunden wird, was ihm von *Wassermann* bestätigt wurde; weitere Versuche an Meerschweinchen, bei denen er das Komplement aus dem Blute entfernt hatte und die mit Toxin vergiftet wurden, veranlaßten ihn, den Schluß zu ziehen, daß der Komplementbestand im Organismus in absolut gar keiner Beziehung zur Heilwirkung des gegen die Diphtherievergiftung einverleibten antitoxischen Serums steht.

Später hat *Herb* (1922) die Ansicht geäußert, daß die Todesfälle an Diphtherie trotz Heilserumtherapie auf Komplementmangel zurückzuführen seien. Er ging dabei von der Annahme aus, daß das Antitoxin nicht neutralisierend auf das Toxin wirkt, sondern direkt auf die Diphtheriebazillen. Eine bakterizide Wirkung könne das Serum aber nur in Gegenwart von Komplement entfalten, das dem Diphtherie-Heilserum aber, wie bekanntlich allen therapeutischen Seren, fehle.

Wenn diese Begründung auch der experimentellen Forschung nicht standhält, da einerseits bei reiner Intoxikation des Meerschweinchens das Toxin durch antitoxisches Serum unschädlich gemacht werden kann, und andererseits, wie oben festgestellt worden ist, eine bakterizide Wirkung des antitoxischen Serums auch bei Anwesenheit von Komplement niemals in vitro und in vivo nachgewiesen werden konnte, so könnte seine Ansicht, daß Todesfälle durch Komplementmangel verursacht werden können, doch gestützt werden durch die Theorien, die über die Entgiftung des Toxins durch Antitoxin bestehen und gerade neuerdings wieder durch Beobachtungen von *Magheru* gestützt werden können. Schon *von Behring* hat sich (cit. nach Kleinschmidt) den Entgiftungsprozeß so vorgestellt, daß das Toxin vom Antitoxin physikalisch absorbiert würde, daß aber die definitive Unschädlichmachung in vivo erst unter Mitwirkung eines komplementären Körpers vor sich geht. Auch neuere Arbeiten von *G.* und *A. Magheru* (1929) lassen auf eine Mitbeteiligung des Komplementes schließen. Diese Autoren haben bemerkt, daß das Peritonealexsudat, das nach Injektion von Diphtherietoxin-Bouillon in die Bauchhöhle von Meerschweinchen entsteht (ebenso von Dysenterie- und Tetanustoxin), sehr reich an Komplement ist im Gegensatz zu einem Exsudat, das durch Injektion von gewöhnlicher Bouillon hervorgerufen wurde. Mit dem Ansteigen des Komplementgehaltes des Bauchhöhlenexsudates ging ein Sinken des Komplementgehaltes des Serums parallel, so daß die Autoren von einem Überwandern des Komplements vom Serum in das Exsudat sprechen. Wurde nun kurz nach der Injektion von Diphtherietoxin inaktiviertes, antitoxisches Serum intraperitoneal injiziert, so verschwand das Komplement fast vollständig aus dem Exsudat. Bei Injektion von normalem Pferdeserum trat dieser Schwund nicht ein. Die Autoren schließen aus diesen Untersuchungen: „que la disparition de l'alexine dans l'exsudat est due à sa fixation in vivo sur le complexe toxine-antitoxine. Il est très probable que c'est grâce à ce mécanisme que s'accomplit la destruction des toxines introduites dans l'organisme".

Die Bestätigung dieser Beobachtungen hätte nicht nur eine theoretische Bedeutung. Man könnte sich vorstellen, daß bei

einer hochtoxischen Diphtherie die Unwirksamkeit großer Antitoxindosen auf einem Komplementmangel beruht, der bei dem Entgiftungsprozeß nach und nach entsteht.

Neue Antitoxinmengen würden in diesem Falle dann solange das ständig neugebildete Toxin nicht paralysieren können, bis durch Zuführung von frischem Komplement die endgültige Entgiftung wieder ermöglicht würde.

In eigenen Untersuchungen wurden *Magherus* Ergebnisse eingehend nachgeprüft, und zur Klärung dieser Frage Versuche in vitro und Heilversuche mit Antitoxin und Komplement herangezogen.

Als Komplement wurde frisches Meerschweinchenserum benutzt, dessen Komplementgehalt zwischen 0,01 und 0,015 ccm schwankte, d. h. eine völlige Lösung der sensibilisierten roten Hammelblutkörperchen (1,0 ccm der Aufschwemmung) erfolgte noch bei einer Serummenge von 0,01 bis 0,015 ccm.

Durch Voruntersuchungen (Tab. 1) wurde festgestellt, daß die Pleuraexsudate von Meerschweinchen, die nach subkutaner Injektion von Diphtherietoxin ungefähr am 4. Tage eingegangen waren, Komplementmengen von 0,04 bis 0,03 aufwiesen. Dagegen konnten sichere Komplementwerte der Peritonealexsudate nicht gefunden werden, da nach Beobachtungen an Hunderten von Tieren der Befund von Peritonealexsudat nach

Komplementgehalt von Meerschweinchenexsudaten.

Tabelle 1 (Zeichenerklärung s. Tabelle 2)

Nr.	Serum	0,05	0,04	0,03	0,02	0,01	0,0
1	Pleuraexs. ++ am 4. Tage nach Di. tox. Injektion		—	+	++	++	++
2	„ „		++	++	++	++	++
3	„ „		—	+	++	++	++
4	„ „		—	—	++	++	++
7	„ „			+	+	++	++
8	„ „			++	++	++	++
9	„ „			—	+	++	++
10	„ „				+	++	++
15	„ „				+	++	++
16	„ „		+	++	++	++	++

subkutaner Injektion von Diphtherietoxin geradezu eine Ausnahme zu sein scheint, während große Exsudatmengen in der Pleurahöhle zu den regelmäßigen Befunden bei Diphtherietodesfällen der Meerschweinchen gehören.

Jedenfalls ist der Komplementgehalt des Peritonealexsudates etwas geringer als der des Pleuraexsudates. Dabei muß darauf hingewiesen werden, daß der Komplementgehalt der Exsudate nichts spezifisches für die Diphtherieintoxikation ist, und wohl in allen pathologischen Körperflüssigkeiten Komplement in reichlichem Maße nachzuweisen ist.

Weiter wurde in Vorversuchen (Tab. 2) die Frage zu klären gesucht, wie sich das Serum von Meerschweinchen, die nach Injektion von Diphtherietoxin erkrankten und nach einigen

Komplementgehalt von Meerschweinchenseren.

Zeichen-Erklärung: — Hämolyse
+ ++ +++ +++ schwache-vollständige Hemmung der Hämolyse

Sensib. Blut 1,0
NaCl ad 0,5
Gesamt vol. 2,0

Tabelle 2

Meerschw.-Nr.	Serum	0,03	0,025	0,015	0,01	0,005	0,0
94	normales Serum	—	—	-	++	+++	+++
116	,, ,,	—	—	—	+	+	+++
118	,, ,,	—	-	—	+	+++	+++
119	,, ,,	—	—	—	++	+++	+++
151	,, ,,	—	—	—	+	++	++
152	,, ,,			—	++	+++	+++
153	,, ,,			+	++	+++	++
155	,, ,,	—	—	—		++	+++
171 31	,, ,,	—	—	—	-	++	+++
159	,, ,,	—	-	—	-	++	++
95	am 3. Tage nach Di. tox. Injektion entbl.	—	—	++	++	++	+++
96	,, ,,	-	—	++	++	+++	+++
94	am 5. Tage nach Di. tox. Injektion entbl.	—	—		++	++	+++
93	,, ,,	—			+	+	+++
101	,, ,,	—		+	+	++	+++
102	,, ,,	—	—	+	++	++	+++
153	am 4. Tg. nach Di. tox. Inj. sub fin. vit. entbl.	—	—	+	+++	+++	+++
155	,, ,,	—	—	++	++	++	++
370	am 4. Tg. nach Di. tox. Injekt. (10445 1/40) sub. fin. vitae entblutet	—	+	+++	++	+++	+++

Tagen zugrunde gingen, in Bezug auf seinen Komplementgehalt verhielt. So wurde bei Seren, die von solchen kurz vor dem Sterben entbluteten Tieren stammten, ein Komplementgehalt von 0,015 bis 0,025 festgestellt.

Diese geringen Unterschiede gegenüber normalen Seren, die Werte zwischen 0,01 und 0,015 aufwiesen, sind nicht im Sinne einer besonderen Beeinflussung des Komplementgehaltes durch das Toxin zu verwerten, sind also auch nicht beweisend für das Überwandern des Komplements vom Serum in das Exsudat, zumal diese Unterschiede noch innerhalb der Fehlergrenze liegen können. Seit den Arbeiten von *Dold* und *Klinkhardt* ist bekannt, daß nur wenige Stunden genügen, um den Komplementgehalt frischen Serums zu verändern: bei frischem Serum sinkt in der Regel die Komplementwirkung innerhalb der ersten 4 Stunden stark ab, um dann wieder zu der früheren Höhe emporzusteigen. Ausnahmsweise besitzt aber ganz frisches Meerschweinchenserum in manchen Fällen noch nicht das Maximum der Komplementwirkung, sondern der Titer hebt sich noch innerhalb der nächsten 3 Stunden, um dann entweder für längere Zeit konstant zu bleiben oder langsam wieder abzusinken. Diese Verhältnisse können mancherlei Unterschiede erklären. Der noch kurz vor dem Tode ungefähr normale Komplementgehalt des Serums bei diphtherievergifteten Tieren, bei denen postmortal reichlich Pleuraexsudat mit viel Komplement in den oben angegebenen Mengen gefunden wurde, spricht gegen *Magherus* Annahme, daß das Komplement vom Serum in das Exsudat übergeht. Doch ist es möglich, daß sofort nach der Injektion von Diphtheriegift eine solche Komplementwanderung stattgefunden hat, die nun aber durch Bildung neuen Komplements im Serum wieder ausgeglichen worden ist.

Es wurden deswegen, möglichst entsprechend den Versuchsanordnungen *Magherus*, einigen Meerschweinchen (119, 120) je 5,0 ccm Di.-Toxin-Bouillon eines sicher tödlichen Giftes intraperitoneal injiziert, nachdem vor der Injektion einige ccm Blut mittels Herzpunktion entnommen und der Komplementgehalt bestimmt worden war. Zur Kontrolle erhielten einige

andere Meerschweinchen (118, 121) 5,0 ccm gewöhnliche Bouillon intraperitoneal injiziert. 3 Stunden später wurden die Tiere entblutet und der Komplementgehalt des Serums und Exsudates festgestellt.

Die Ergebnisse von einigen Fällen zeigt die Tabelle 3. Die Unterschiede im Komplementgehalt der Seren vor und nach der Injektion sind sehr gering und reichen nicht im entferntesten

Tabelle 3

Meerschw.-Nr.	Serum	0,3	0,25	0,2	0,15	0.1	0,05	0,04	0,03	0,025	0,02	0,015	0,01	0,005	0,0
118	*Ser.* v. d. Inj.		—	—	—	–		—	—	—	—	–	++	+++	+++
	Ser. 3 St. post Inj. v. 5,0 Bouillon ip. (entbl.)		—	—			—	–		—	+	++	+++	+++	+++
	Perit. exsudat.	—	—	—	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
119	*Ser.* v. d. Inj.	–	-	—	-		—	-	—		—		+	+++	+++
	Ser. 3 St. post Inj. v. 5,0 *Di. tox. Bouillon* ip.	—	—			-		–	-	—	-	+	++	++	+++
	Perit. exsudat.	—	—	—	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
120	*Ser.* v. d. Inj.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+++	+++	+++
	Ser. 3 St. post Inj. v. 5,0 *Di. tox. Bouillon* ip.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	++	++	+++
	Perit. exsudat.			-+	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
121	*Ser.* v. d. Inj.	—		—		–	—	—	-		—	—	+	++	+++
	Ser. 3 St. post Inj. v. 5,0 Bouillon ip.				–	-		--	—	--	–	+	++	+++	+++
	Perit. exsudat.	—	—	—	+	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

an die Versuchsergebnisse *Magherus* heran, die im Serum vor der Injektion einen Titer von 0,01 (eigene Versuche 0,015), nach der Injektion einen Titer von 0,035 (eigene Versuche: 0,02 bis 0,025) erhalten haben. Außerdem konnte kein Unterschied im Komplementgehalt der Exsudate bei Verwendung von Diphtherietoxinbouillon und gewöhnlicher Bouillon festgestellt werden. Die Exsudate zeigten unterschiedslos eine Komplementwirkung von 0,2 bis 0,25 an. Dieses Ergebnis widerspricht völlig *Magherus* Feststellungen, die in Exsudaten

nach intraperitonealer Injektion von normaler Bouillon und von durch Antitoxin neutralisierter Diphtherietoxinbouillon kein Komplement, dagegen reichlich Komplement nach Injektion von Diphtherietoxinbouillon nachweisen konnten.

Im Zusammenhang mit dieser Frage wurde weiterhin die Einwirkung frischen Komplements auf die experimentelle Diphtherieintoxikation und -infektion untersucht. War doch durch *Magherus* Angaben die Möglichkeit gegeben, daß die angebliche Verarmung des Serums an Komplement nach intraperitonealer Diphtherietoxininjektion einen ungünstigen Einfluß auf den Krankheitsverlauf ausüben könnte, der vielleicht durch Zufuhr von frischem Komplement wenigstens teilweise behoben werden konnte. Die Tabellen 4 und 5 zeigen die Ergebnisse dieser Versuche. Einige Meerschweinchen, denen je eine L+-Dosis des Diphtherietoxins subkutan injiziert worden war (L+-Dosis ist die Giftmenge, die zusammen mit 1 AE, subkutan injiziert, den Tod des Tieres am 4. Tag herbeiführt), gingen am 4. bzw. am 5. Tage nach der Injektion ein, gleichgültig, ob ihnen zusammen mit der Diphtherietoxingabe 1,0 oder 2,0 ccm frisches Komplement, 1,0 ccm inaktives Komplement oder als Kontrolle 2,0 ccm NaCl subkutan eingespritzt worden waren.

Ebenso wie bei der Diphtherieintoxikation hatte das Komplement bei der Diphtherieinfektion keinen günstigen Einfluß. Tiere, die mit 1 Öse des Stammes 10 445 subkutan oder intraperitoneal infiziert worden waren, gingen trotz gleichzeitiger Komplementzuführung von 1,0 ccm am 2. oder 3. Tage zugrunde. Auch bei Tieren, die nur $^1/_{30}$ Öse erhalten hatten, konnten Mengen von 2,5—5 ccm Komplement keine schützende Wirkung entfalten. Das Diphtherietoxin hat also für sich allein, wie diese Versuche zeigen, keinen solchen Einfluß auf die Änderung des Komplementgehaltes im Serum oder Exsudat, daß etwa durch Verringerung der Komplementmenge im Serum infolge des Überwanderns in das Exsudat der Verlauf der Erkrankung bestimmt werden könnte. Es bleibt die Frage zu klären, ob bei der gleichzeitigen intraperitonealen

Injektion von Diphtherietoxin und Antitoxin als Folge des im Körper stattfindenden Entgiftungsprozesses ein solcher Komplementmangel eintritt.

Einfluß des Komplements auf Di.-Intoxikation.

Tabelle 4

Meerschw.-Nr.	Injektion	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag		
156	L ┼ Di. tox. + 1 AE subc. + 2,0 Kompl. subc.	○	○	○	┼		Di.-Tod
158	L ┼ Di. tox. + 1 AE sub. + 1,0 Kompl. + 1,0 NaCl.	○	○	○	┼		Di.-Tod
159 K	L ┼ Di. tox. + 1 AE subc. + 2,0 NaCl	○	○	○	○	┼	Di.-Tod
157 K	L ┼ Di. tox. + 1 AE subc. + 1,0 inakt. Kompl.	○	○	○	○	┼	Di.-Tod

Einfluß des Komplements auf Di.-Infektion.

Tabelle 5

Meerschw.-Nr.	Injektion	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	
261	1 Öse 10445 in 1,0 NaCl subc. + 1,0 Kompl. subc.	○	┼	Di.-Tod			
258 K	1 Öse 10445 in 1,0 NaCl subc. + 1,0 NaCl	○	┼	Di.-Tod			
291	1 Öse 10445 in Bouillon ip. + 1,0 Kompl. ip.	○	○	┼	Di.-Tod		
286 K	1 Öse 10445 in Bouillon ip. + ∅	krank	┼	Di.-Tod			
376 (290 g)	1/30 Öse 10445 subc. + 1,0 Kompl. ip.	○	○	○	○	○	die Injektion St. wird nekr., stößt sich ab; lebt noch nach 6 Wochen
377 (290 g)	1/30 Öse + 2,5 Kompl. ip.	○	○	○	○	○	┼ am 9. Tg. Di.-Tod
378 (290 g)	1/30 Öse + 5,0 Kompl. ip.	○	○	○	○	○	┼ am 6. Tg. Di.-Tod
384 K	1/30 Öse	○	○	○	○	○	┼ a. 12. Tg. Di.-Tod

Um darüber ein Urteil fällen zu können, wurden einigen Meerschweinchen (301, 322. 519 — s. Tabelle 6) kleinere oder größere Diphtherietoxindosen intraperitoneal injiziert und sofort danach 750 Antitoxineinheiten und mehr ebenfalls intraperitoneal eingespritzt. Anderen Tieren (324. 334) wurden erst 2 bzw. 20 Stunden später dieselben Antitoxinmengen in die Bauchhöhle injiziert. Zur Kontrolle erhielten 2 Meerschweinchen (303. 521) nur Diphtherietoxin intraperitoneal, 2 andere (323. 520) erhielten Diphtherietoxin und normales Pferdeserum.

3 Stunden nach der Injektion des Serums wurden die Tiere entblutet und Sera und Peritonealexsudate auf ihren Komplementgehalt untersucht. Die Seren wiesen in ihrem Komplementgehalt gegenüber Normalseren kaum Unterschiede auf. Er schwankte zwischen 0,01 und 0,02 ccm. Dagegen waren die Komplementwirkungen der einzelnen Exsudate sehr verschieden. In den Exsudaten von den Tieren, die sofort nach der Toxininjektion Antitoxin erhalten hatten (301, 322), waren bis zu einer Menge von 0.5 ccm keine oder nur ganz geringe Komplementwirkungen fest-

*Tabelle 6 *)*

Meerschw.-Nr.	gleichzeitig ip.			0.5	0.4	0.3	0.25	0.2	0,15	0.1	0.05	0
301	Di.-Tox. 1 Dlm.	750 AE	3 Stunden später entblutet	Ser. 301 1:10	—	—	—	—	—	—	·	⁄	—
303	Di.-Tox. 1 Dlm.	∅		Ser. 303 1:10	-	—	—	—	—	-	—	⁄	—
334	Di.-Tox. 1 Dlm.	nach 2 Stunden 750 AE		Ser. 334 1:10	-		—	—	—	·	—	—	—
				Exs. 301	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				Exs. 303	—	—	—	—	—		—	—	—
				Exs. 334	—	—	—	—	—	-	—	—	—
322	Di.-Tox. 1 Dlm.	gleichzeit. 750 AE	3 Std. später entblutet	Ser. 322 1:10	—			—	—	—	—	—	—
323	Di.-Tox. 1 Dlm.	normales Pferdeser.		Ser. 323 1:10					—	—	—	—	—
324	Di.-Tox. 1 Dlm.	nach 20 Std. antitox. Pferdeser. 750 AE		Ser. 324 1:10	·	—		—	—	—	—	—	—
				Exs. 322	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				Exs. 323	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				Exs. 324	–			–	—	—	—	—	—
519	Di.-Tox. 20 Dlm. (420 g) ip.	n. 10 Min. 1100 AE 2,0	nach 3 Std. entblutet	1/10 Ser. 519	–				—	—	—	—	—
				Exs. 519	—	—	—	—	—	—	—	—	—
520	Di.-Tox. 20 Dlm. (420 g) ip.	normales Pferdeser. 2,0		1/10 Ser. 520	—	—	—	—	—	—	—	—	⁄
				Exs. 520	—	—	—	—	—	—	—	—	—
521	Di.-Tox. 20 Dlm. (410 g)	∅		1/10 Ser. 521				·		—	—	—	⁄
				Exs. 521	—	—	+	—	—	—	—	—	⁄

*) Kontrollversuche siehe Tabelle 7, Seite 72

zustellen, während das Exsudat des Kontrolltiers (303) einen Komplementgehalt von 0,15 aufwies. Die Exsudate der Meerschweinchen, denen 2 und 20 Stunden nach der Diphtherietoxininjektion Antitoxin injiziert worden war (334, 324), hatten einen Komplementgehalt von 0,25 ccm.

Demnach kann die Hemmung nicht etwa auf eine stärkere Eigenhemmung des Toxins oder Antitoxins zurückgeführt werden, sondern es ist vielmehr eine Komplementbindung bei der Vereinigung Toxin-Antitoxin anzunehmen. Der etwas stärkere Komplementgehalt der Exsudate nach späterer Antitoxininjektion könnte dann darauf zurückgeführt werden, daß in der Zwischenzeit, die zwischen Toxin- und Antitoxininjektion vergangen ist, entweder schon ein Teil des Toxins resorbiert worden ist und damit zur Entgiftung eine geringere Komplementmenge beansprucht wird, oder daß inzwischen neues Komplement gebildet worden ist.

Auffällig war es, daß in dem Exsudat des Tieres (323), dem normales Pferdeserum intraperitoneal sofort nach der Diphtherietoxininjektion eingespritzt worden war, bis zu einer Menge von 0,5 ccm keine Komplementwirkung nachgewiesen werden konnte. Auch bei Verwendung von frischem Pferdeserum ohne Carbolzusatz, der bekanntlich die Hämolyse hemmen kann, wurde derselbe Befund erhoben, obwohl solches Pferdeserum die Hämolyse nicht hemmte.

Zur Nachprüfung dieses Befundes wurden die Versuche in einer anderen Anordnung wiederholt, die weitgehend derjenigen *Magherus* angeglichen wurde.

Es wurde ein Gemisch hergestellt, in dem 3,0 ccm antitoxisches Pferdeserum (zusammen 1150 AE), 2,0 ccm frisches Komplement und 15,0 ccm 0,85%ige Kochsalzlösung enthalten waren. Das frische Komplement hatte eine Komplementwirkung von 0,015, das Gemisch eine solche von 0,025 ccm. Eine gewisse geringe Hemmung übte also das antitoxische Serum allein aus. Von diesem Gemisch wurden 2 Meerschweinchen je 5,0 ccm, also ungefähr 285 AE, intraperitoneal einverleibt. Das eine Tier (352) erhielt 5 Minuten später 3,3 ccm eines Diphtherietoxins (= 2 D. l. m.), das andere Tier (353) erhielt keine weitere Injektion. Eine Stunde später wurden die Exsudate beider Tiere auf ihren Komplementgehalt untersucht (s. Tabelle 7).

Das Exsudat des ersten Tieres, das außer dem Gemisch Toxin erhalten hatte, hatte auch bei einer Menge von 0,5 ccm noch keine Hämolyse zur Folge, während das Exsudat des anderen Tieres schon in einer Menge von 0,25 völlige Lösung hervorrief.

Bei den Kontrolluntersuchungen in vitro wurde festgestellt, daß das Diphtherietoxin in derselben Menge und Verdünnung mit Komplement zusammen bei 0,25 ccm völlige Lösung herbeiführt, daß auch das Antitoxin keine stärkere Hemmung verursachte und das Gemisch: Diphtherietoxin + Antitoxinmischung in vitro nur bis 0,25 die Hämolyse hemmte.

Diphtherietoxin 6fach = 1/750 3,3 = 2 Dlm.
Gemisch: 3,0 antitox. Pferdeserum (1150 AE) + 2,0 frisches Kompl. + 15,0 0,85% Kochsalzlösung.

Tabelle 7

Meerschw.-Nr.			0,5	0,4	0,3	0,25	0,2	0,15	0,1	0,05	0
352	5,0 ccm des Gemisches ip., 5 Min. später 2 Dlm. Di.-Toxin	1 Stunde später entblutet									
		Exsud. 352	###	###	###	###	###	###	###	###	###
353	5,0 ccm des Gemisches	Exsud. 353	—	—	—	—	+	+	###	###	###
		Gemisch	—	—	—	—	+	##	###	###	###
Kontrollvers. in vitro (2 Dlm.) Di.-Tox. 3,3 + 5,0 Kompl., 1:10			—	—	—	—	##	###	###	###	###
3,3 Di.-Tox. 1/750 + Gemisch			—	—	—	+	##	###	###	###	###

Damit ist man zu der Annahme berechtigt, daß bei der Toxin-Antitoxinbindung in vivo ein meßbarer Komplementverbrauch stattfindet, der in der Komplementwirkung des Exsudates in Erscheinung tritt. Es blieb die Frage zu klären, ob sich bei größeren Diphtherietoxin- und Antitoxindosen, die intraperitoneal injiziert wurden, auch im Serum ein Komplementverbrauch bemerkbar macht.

Es wurden deswegen einigen Meerschweinchen große Mengen Diphtherietoxin und nach 4 und 19 Stunden nochmals große Toxindosen injiziert. Jedesmal eine Stunde nach dieser Injektion erhielten die Tiere je 800 AE eines antitoxischen Heilserums. Die Injektionen wurden bei dem einen Tier (363) subkutan, bei einem anderen Tiere (371) intraperitoneal ausgeführt. 4 Stunden nach der letzten Injektion wurden die Tiere entbtutet. Zur Kontrolle erhielt ein Tier (372) nur Toxin in denselben Mengen. Der Komplementgehalt der einzelnen Sera wies folgende Unterschiede auf:

Tabelle 8

	0.5	0.4	0.3	0.25	0.2	0.15	0.1	0.05	0
Serum *363* 3 × subc. Injekt. von Di.-Tox. u. Antitox.	—	—	—	++	++	+++	+++	+++	+++
Serum *371* ip. Injektion	—	—	—	—	—	+	+++	+++	+++
Serum *372* nur Toxin, Kontrolle	—	—	—	—	—	—	+	++	+++

Bei dem Tiere, bei dem subkutane Injektion angewendet worden war, führte das Serum nur bis 0,03 ccm zu einer völligen Lösung der roten Hammelblutkörperchen, bei dem Tiere mit intraperitonealer Injektion bis 0,02 ccm, während das Kontrollserum bei 0,015 noch eine völlige Lösung herbeiführte. Es ist fraglich, ob diese geringen Unterschiede für einen Komplementverbrauch im Serum infolge der Toxin-Antitoxinbindung zu verwerten sind. Auch bei normalen Seren kommen ja gewisse Schwankungen vor (s. S. 65), die aber meist nicht so groß sind. Die ausgesprochen schlechte Komplementwirkung des Serums 363 ist wohl sicher auf die Vergiftung zurückzuführen. Wie weit aber dieser geringere Komplementgehalt einen ungünstigen Einfluß auf den Krankheitsverlauf auszuüben imstande ist, kann hier nicht festgestellt werden.

Trotzdem also bei der Vereinigung von Toxin-Antitoxin im lebenden Organismus ein Komplementverbrauch stattzufinden scheint, konnte in vitro bei Kontrollversuchen, die den Verhältnissen in vivo angeglichen waren, eine solche Komplementbindung nicht nachgewiesen werden. Auch *Uffenheimer* hat, wie schon bemerkt, gefunden, daß bei Toxin-Antitoxingemischen in vitro eine Komplementabsorption nicht stattfand — *Wassermann* hat ihm dies bestätigt — und *Magheru* stellte ebenfalls das Nichtübereinstimmen der Versuche in vivo und in vitro fest. Um hier zu einem Urteil zu kommen, wurde weiter untersucht, ob nicht unter den günstigsten Verhältnissen in vitro doch eine Komplementbindung nachweisbar ist.

Zur Durchführung dieser Versuche wurde die Präzipitations- oder Flockungsreaktion herangezogen, die bekanntlich als äußeres Kennzeichen für die stattgefundene Toxin-Antitoxinbindung, d. h. für die Adsorption des Antitoxins an das Toxin, aufgefaßt wird. Es konnte angenommen werden, daß in solchem Gemisch vorhandenes Komplement, falls dieses irgendwie von Bedeutung ist, bei der Flockung mitgebunden wird. Dieser Vorgang würde sich in einer Hemmung der Hämolyse kennzeichnen.

Als Diphtherietoxin wurde ein frisches Diphtheriebazillenbouillonfiltrat, das 7 Tage nach der Beimpfung der Bouillon hergestellt worden war, ohne irgendwelche desinfizierende Zusätze verwendet, als Antitoxin frisches 500faches Pferdeserum, ebenfalls ohne konservierende Zusätze, die bekanntlich die Hämolyse hemmen können.

Die Versuche wurden in sterilen Flockungsröhrchen angesetzt und — im Gegensatz zu der üblichen Flockung zum Zweck der Auswertung, die bei 45—50° im Wasserbad vor sich geht, — bei Brutschranktemperatur von 37° durchgeführt, um die Hämolyse bei der gewöhnlichen (Körper-)Temperatur zu ermöglichen.

Bei den Vor- und Kontrollversuchen stellte sich heraus, daß die frische Diphtherietoxinbouillon im Gegensatz zu reiner, gewöhnlicher Bouillon in Mengen über 1,4 ccm in der betreffenden Versuchsanordnung eine Hemmung auf die Hämolyse ausübte, die die Beurteilung der Befunde sehr erschwerte. Das Antitoxin hemmte auch in Mengen von 2,0 ccm (in der Verdünnung 1:25) die Hämolyse nicht (Tabelle 9).

Es wurde zunächst (Serie 1) die Flockungszone des Toxin-Antitoxingemisches festgestellt und zu diesem Zweck fallende Mengen des Diphtherietoxins D W 7 von 2,0—0,6 ccm mit je 0,5 ccm des im Verhältnis 1:25 verdünnten antitoxischen Pferdeserums (=10 AE) zusammengebracht und der Brutschranktemperatur (37°) ausgesetzt. Nach 4 Stunden zeigte das Röhrchen mit 1,2 ccm Toxin die erste Flockung.

Zur Feststellung der Komplementbindung wurden den einzelnen Röhrchen bei allen weiteren Versuchen je 0,5 ccm Komplement in der Verdünnung 1:10 und nach einer gewissen Zeit je 1,0 ccm sensibilisierter roter Blutkörperchen — 1 Teil Hammelblutkörperchen 1:20 verdünnt und 1 Teil Ambozeptorverdünnung, meist 1:200, $^1/_2$ Stunde bei 37° gehalten — zugesetzt.

Die 2. Serie, bei der Komplement und sensibilisiertes Blut *nach* der eingetretenen Flockung zugegeben worden waren, zeigt die starke Hemmung des Gemisches bis zu einer Toxinmenge von 0,6 ccm an, wogegen dasselbe Gemisch ohne Antitoxin, an dessen Stelle 0,5 ccm 0,85% NaCl-Lösung zugegeben worden war, nur bis zu einer Toxinmenge von 1,4 ccm hemmte. Wie oben schon erwähnt, übte das Antitoxin im Kontrollversuch (Serie 3) keine Hemmung aus.

In der 4. und 5. Serie wurde das hämolytische System *vor* der sichtbaren Flockung zugesetzt. In diesem Falle hemmte das Toxin-Antitoxingemisch bis zu einer Toxinmenge von 0,4 ccm, während das Toxin-Kochsalzlösunggemisch bis 1,4 stark, bis 1,0 ccm Toxin noch in ganz geringem Grade hemmte.

Bei dieser Versuchsanordnung wurden die sensibilisierten roten Blutkörperchen $1^1/_4$ Stunde nach der Zugabe des Komplements in die Röhrchen gefüllt.

Bei der 6. Serie wurde diese Zwischenzeit auf $^1/_2$ Stunde verkürzt. Auch bei diesem Versuch übte das Toxin-Antitoxingemisch noch bis zu einer Toxinmenge von 0,3 ccm eine Hemmung aus, wogegen das Kontrollgemisch mit NaCl-Lösung statt Antitoxin schon bei 0,6 ccm Toxin eine völlige Hämolyse und bei 1,0 ccm eine den 0,3 ccm entsprechend starke Hemmung zeigte.

Weiterhin wurden bei sonst gleicher Versuchsanordnung die Antitoxinmengen variiert. Dabei stellte sich heraus, daß das Gemisch auch noch bei einer Toxinmenge von 0,1 ccm hemmte, wenn mehr Antitoxin zugegeben wurde.

Danach ist der Grad der Komplementbindung abhängig von dem Mengenverhältnis Toxin-Antitoxin. Diese Beobachtung

Komplementbindung
bei Toxin-Antitoxingemischen in vitro.

Tabelle 9

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.
1. Serie												
Di.-Tox. D. W. 7	2,0	1,5	1,6	1,4	1,2	1,0	0,8	0,6				
Antitox. 1/25 (500fach) (0,5 = 10 AE)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5				
nach 4 Std. Flockg. b. 37°	—	—	—	+	++	+	–	–				
2. Serie												
Di.-Tox. DW 7 / Antitoxin 9³⁰	2,0 0,5	1,8 0,5	1,6 0,5	1,4 0,5	1,2 0,5	1,0 0,5	0,8 0,5	0,6 0,5				
I. Kompl. 1 : 10 12³⁰	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	(n. d. Flockg. zugegeben)			
Sensib. Blut 1 : 400 14³⁰	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0				
	+++	++	–	+++	++	+++	++	++				
II. NaCl statt Antitox.	+++	∅	+++	∅	—	∅	—	∅	Di.-Tox. allein hemmt			
3. Serie Kontr.												
Antitoxin 1/25	2,0	1,4	1,0	0,6	0,4							
NaCl 0,85%	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5							
Kompl. 1 : 10	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5							
Sensib. Blut 1/200	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0							
	—	–	—	—	—							
4. Serie												
Di.-Tox. DW 7	2,0	⁄	1,4	1,2	0,8	∅	0,4					
Antitoxin	0,5	⁄	0,5	0,5	0,5	⁄	0,5					
Kompl.	0,5	⁄	0,5	0,5	0,5	⁄	0,5					
Sensib. Bl. 1¼h n. Ko. zug.	1,0	⁄	1,0	1,0	1,0	⁄	1,0					
	+++		+++	+++	+++		+++					
5. Serie												
Di.-Tox. DW 7 / NaCl 10³⁰	2,0 0,5	1,6 0,5	1,4 0,5	1,2 0,5	1,0 0,5	0,6 0,5	0,4 0,5					
Kompl. 1 : 10 13³⁰	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	(vor der Flockg. zugegeben)				
Sensib. Blut 14⁴⁵	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0					
	+++	+++	++	+	+	—	–					
6. Serie												
Di.-Tox. DW 7 10³⁰	2,0	1,6	1,4	1,2	1,0	0,8	0,6	0,4	0,3	0,2	0,1	0,05
Antitoxin 13³⁰	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
I. Kompl. 1 : 10 14⁰⁰	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Sensib. Blut 14³⁰	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	+++	+++	+++	++	+++	++	++	++	++			-
II. NaCl statt Antitox.	++	++	++	+	+	+		–				–
III. Antitox. in Mengen von				0,5 +++	0,5 +++	1,5 +++	0,5 ++	1,5 +++	0,5 ++	1,5 ++	2,0 ++	1,5 –

entspricht den Erfahrungen, die von *Dean* mit *Webb* und *Goldsworthy* bei Präzipitationsversuchen mit Antigen-Antikörpergemischen gemacht wurden. Nach ihren Untersuchungen ist die Komplementfixation abhängig von dem Verhältnis Antigen-Antikörper und erreicht bei einem bestimmten, dem günstigsten Mischungsverhältnis, ein Maximum. Dieses Maximum fällt aber in der Regel nicht mit dem Maximum der Präzipitation der Flockung zusammen, sondern liegt bei einer etwas geringeren Antigenmenge bei gleichbleibender Antikörpermenge. Diese Beobachtung, die an anderen Präzipitationsgemischen gemacht worden sind, konnte in den obigen Toxin-Antitoxin-Versuchen nicht zum Ausdruck kommen, weil das Toxin selbst eine gewisse Hemmung ausübte. Auch größere Komplementmengen, die den Gemischen zugesetzt wurden, ergaben kein klares Bild.

Es wurden deswegen Erfahrungen, die inzwischen mit konzentriertem Anatoxin, das in einer Menge von 2,5 ccm keine Hemmung auf die Hämolyse ausübte, gemacht wurden, auf das Diphtherietoxin zu übertragen versucht und auf dieselbe Weise ein konzentriertes Diphtherietoxin durch Ammoniumsulfatfällung und Dialyse hergestellt; dies zeigte auch in Mengen von 3,0 ccm im hämolyt. System keine Hemmung mehr.

Für die Versuche (Tabelle 10) wurde dieses Diphtherietoxin-Konzentrat im Verhältnis von 1:2 mit Kochsalzlösung verdünnt und entsprechend den oben angeführten Versuchen mit 0,5 ccm eines im Verhältnis 1:25 verdünnten antitoxischen Serums (= 10 AE) zusammengebracht. Die Flockungszone lag bei 0,5 ccm Diphtherietoxin-Konzentrat. Dagegen war die Komplementbindung bei 0,5 ccm Toxin nur in geringem, bei 0,25 und 0,1 ccm in hohem Grade vorhanden, was sich durch eine starke Hemmung bemerkbar machte. Bei Diphtherietoxinkonzentratmengen von 0,6—2,0 ccm war völlige Hämolyse eingetreten.

Diese Untersuchungsergebnisse waren aber nur bei ganz frisch bereitetem, konzentriertem Diphtherietoxin und ganz frischem antitox. Pferdeserum vorhanden. Wenn das Toxin und das

Tabelle 10

1. Serie										
Di.-Tox.-Konzentrat 1 : 2	3,0	2,0	1,0	0,75	0,6	0,5	0,4	0,25	0,1	0,05
Antitox.-Ser. $^1/_{25}$ (= 10 AE)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Flockung n. 3 Std.	—	—	—	+	+	++	+	+	—	—
vor d. Flockung Kompl. $^1/_{10}$ n. 2 Std.	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
$^1/_2$ Std. später sensibl. Blut	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Komplementbindung		—	-	—	—	—	-	+	++	++
2. Serie Kontrolle										
Di.-Toxin	3,0	2.0	1,0	0,75	0,6	0,5	0,4	0,25	0,1	0,05
NaCl.-Lösung 0,85% statt Antitoxin	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Komplement	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
sensibl. Blut	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Komplementbindung	—	-	—		—	—	-		—	—

Serum eine Zeitlang gestanden hatten, traten in der ganzen Versuchsreihe des Gemisches starke Hemmungen der Hämolyse auf, während die beiden Faktoren des Gemisches für sich allein keine Hemmung ergaben. Auffallenderweise hemmten aber auch die Gemische die Hämolyse, bei denen statt antitoxischen Serums normales Pferdeserum, das selbst keine Hemmung auf die Hämolyse ausübte, verwendet worden war. Dieser Befund, der ja auch schon bei den Versuchen in vivo erhoben werden konnte, läßt die Schwierigkeit der Beurteilung solcher Komplementbindungsversuche erkennen. Doch haben verschiedene Versuchsreihen so überzeugende Ergebnisse gehabt, daß man wohl mit Sicherheit eine echte Komplementbindung im Anschluß an eine echte Toxin-Antitoxinbindung annehmen kann.*) Die Bedingung dazu ist durch den relativen lyophoben Charakter des zum Zustandekommen einer sichtbaren Trübung nötigen Antitoxins gegeben.

Die Ergebnisse der Untersuchungen über die Rolle des Komplements bei der Diphtherie können dahin zusammengefaßt werden:

*) Auch E. Renaux (Anm. de l'Inst. Pasteur 1928. *42*. 356) sowie L. Sieber und Tschernochewostow (Z. f. Immunitätsforschung 1926, *48*. 472) berichten über Komplementbildung an Toxin-Antitoxin-Komplexen.

1. Der Komplementgehalt der Seren von Tieren, die nach subkutaner oder intrakutaner Injektion von Diphtheriegift oder -bazillen eingegangen sind, ist im Vergleich zu dem bei normalen Tieren nicht wesentlich verringert. Das Pleuraexsudat, das im Gegensatz zum Peritonealexsudat regelmäßig bei solchen Tieren vorhanden ist, hat einen weitgehend konstanten Komplementgehalt.

2. Bei intraperitonealer Injektion von Diphtherietoxinbouillon oder gewöhnlicher Bouillon weisen die Bauchhöhlenexsudate in ihrem Komplementgehalt keine Unterschiede auf.

3. Frisches Komplement hat auf die Meerschweinchendiphtherie, die durch Injektion von Toxin oder Diphtheriebazillen verursacht worden ist, in Mengen von 1,0—5,0 ccm keinen Einfluß.

4. Bei der Vereinigung Diphtherietoxin-Antitoxin in vivo findet ein Komplementverbrauch statt. Aber auch bei Verwendung von norm. Pferdeserum statt antitox. Serum wird Komplement in vivo mitgebunden.

5. Nach mehrmaligen Injektionen großer Mengen von Diphtherietoxin und Antitoxin konnte eine wesentliche Abnahme des Komplementgehaltes im Serum, eine Komplementverarmung des Serums, nicht nachgewiesen werden.

6. Diphtherietoxin-Antitoxingemische in vitro riefen eine Komplementbindung hervor, die nicht von dem Zeitpunkt der Flockung abhängig ist.

   Das Maximum der Komplementbindung fällt nicht mit dem Maximum der Flockung zusammen, sondern entspricht bei gleichbleibender Antitoxinmenge einer geringeren Toxinmenge.

   Diese Komplementbindung der Toxin-Antitoxingemische entspricht somit den Komplementbindungsreaktionen anderer Antigen-Antikörpergemische.

Literatur.

Dean and *Webb:* The influence of optimal proportions of antigen and antibody in the Serumprecipitation-reaction. J. of Path. a. Bact. 1926, *29*, 473; 1928, *31*, 89.

Dold und *Klinkhart:* Studien über den Einfluß der Technik und anderer äußerer Faktoren auf die Titerhöhe hämolytischer Ambozeptoren. Arbeiten aus dem Staats-Institut f. exp. Therapie, Frankfurt/M. 1922, *15*, 23.

Goldsworthy: Experiments upon the relationship of Complementfixation to precipitation. J. of Path. and Bact. 1928, *31*, 220.

Magheru, G. et A.: Fixation de l'alexine, in vivo, sur le complexe toxin-antitoxine. C. r. Soc. Biol. 1929, Nr. 17, 206.

Magheru, G. et A.: Apparition chez le Cobaye de grandes quantités d'alexine dans les exsudats péritonéaux provenues par l'injection de toxines. C. r. Soc. Biol. 1929, Nr. 17, 204.

Herb: The bactericidal value of the antidiphtheric serum, with therapeutic deductions. Med. Rec. 1922, *101*, 451.

Uffenheimer: Weshalb versagt das Behring'sche Diphtherie-Heilserum in gewissen Fällen? M. m. Woch. 1909, 598.

Wassermann: Über eine neue Art von Diphtherie-Heilserum. Dtsch. med. Wochenschrift 1902, 785.

Herrn Prof. Dr. H. Schmidt bin ich für Überlassung des Themas und die Unterstützung bei der Arbeit zu großem Danke verpflichtet.

Lebenslauf.

Am 6. März 1908 wurde ich, Wolfgang Ludwig Anton Pernice, als Sohn des Preuß. Staatsoberförsters Hugo Pernice und seiner Ehefrau Alice Pernice, geb. Laub, zu Suhl/Thür. geboren. Nach 3jähriger Vorschulzeit besuchte ich die Oberrealschule in Suhl bis Herbst 1920 und dann das Reform-Realgymnasium in Marburg a. d. Lahn, wo ich Ostern 1926 das Reifezeugnis erhielt.

Das Studium der Medizin begann ich im Sommersemester 1926 in Marburg, bestand dort am 27. April 1928 das ärztliche Vorexamen und studierte dann in Greifswald, München und Marburg. Am 27. Juni 1931 bestand ich in Marburg die ärztliche Staatsprüfung. Während des praktischen Jahres war ich im Institut für experimentelle Therapie „Emil von Behring" (Professor Dr. H. Schmidt), in der Universitäts-Hals-, Nasen- und Ohrenklinik, Marburg (Prof. Dr. Uffenorde), und in der Universitäts-Kinderklinik, Jena (Prof. Ibrahim), als Medizinal-Praktikant tätig.

Meine vorklinischen Lehrer waren

in Marburg: *v. Auwers, Claussen, Dittler, Göppert, Jacobshagen, Korschelt, Kutscher, Nauck, Schäfer, Senftleben, Strecker.*

Meine klinischen Lehrer waren

in Greifswald: *Beckmann, Gragert, Hoehne, Leupold, Pels Leusden, Reschke, Sommer;*

in München: *Beck, Boehm, Borst, Bumke, Döderlein, Fahrig, Groll, Groth, Hohmann, Kisskalt, Lange, Lexer, Lenz, v. Pfaundler, v. Romberg, Wessely, v. Zumbusch;*

in Marburg: *Eimer, Freudenberg, Göppert, Grüter, Gürber, Hildebrand, Kehrer, Klapp, Klewitz, Kretschmer, Loebell, Naujoks, Neumann, Pfannenstiel, Ruete, Schmidt, Schwenkenbecher, Uffenorde, Versé, Wiedhopf.*